remel

Xpect® Giardia/Cryptosporidium

INTENDED USE

Remel Xpect® Giardia/Cryptosporidium kit is an *in vitro* qualitative immunoassay for the detection of *Giardia* and *Cryptosporidium* antigens in preserved and unpreserved fecal specimens. This test is intended as an aid in the laboratory diagnosis of suspected *Giardia* and *Cryptosporidium* infections.

SUMMARY AND EXPLANATION

Giardiasis and Cryptosporidiosis are among the most common causes of parasitic intestinal disease in developed countries.[1,2] Infection usually occurs through the ingestion of contaminated food or drinking water. Distinguishing between the two causative agents is important for the selection of appropriate treatment options.[3,4]

Giardia intestinalis, also known as *G. lamblia*, or *G. duodenalis,* exists in two different morphologic forms: an environmentally resistant cyst and a flagellate trophozoite. The organism is associated with intestinal infections in humans characterized by acute watery diarrhea, abdominal cramps, malabsorption, anorexia, nausea, weight loss, and flatulence lasting from several days to weeks. Chronic or asymptomatic infections may also occur.

The causative agent of Cryptosporidiosis in humans is *Cryptosporidium parvum.* Environmentally resistant oocysts represent the transmissible form of the organism.[5,6] Symptoms of the acute disease may include watery diarrhea, abdominal pain, nausea, vomiting, low-grade fever, and malaise lasting from several days to more than a month. Asymptomatic infections may also occur.

Immunoassays have become well-established adjuncts to microscopic examinations in the diagnosis of *Giardia* and *Cryptosporidium* infection.[7-10] Specific antigens characteristic of each organism are shed into the stools of infected patients. Detection of these antigens in fecal specimens by immunoassays incorporating highly specific antibodies can confirm the presence of *Giardia* or *Cryptosporidium*. Xpect® Giardia/Cryptosporidium is a rapid, non-enzymatic immunoassay designed to detect the presence of *Giardia* and *Cryptosporidium* antigens in preserved and unpreserved fecal specimens.

PRINCIPLE

The Xpect® Giardia/Cryptosporidium is a chromatographic immunoassay that detects the presence of *Giardia* and *Cryptosporidium* antigens. The test utilizes sample wicking to capture *Giardia* and *Cryptosporidium* antigens on discrete test lines containing antigen-specific antibodies for each organism. A specimen is added to a dilution tube containing a buffered solution. A conjugate containing colored microparticles linked to murine monoclonal antibodies specific for *Giardia* and *Cryptosporidium* is added. The mixture is dispensed into the sample well of the device and wicks along a membrane containing capture antibody stripes. If present, the *Giardia/Cryptosporidium* immune complexes react with anti-*Giardia* antibody and/or anti-*Cryptosporidium* antibody at the test line. Antibody-labeled microparticles not bound at the test lines are later captured at the control line containing anti-mouse antibody. A blue line of any intensity will appear at the *Giardia* test position if *Giardia* antigen is present and a red line of any intensity (light pink to red) will appear at the *Cryptosporidium* test position if *Cryptosporidium* antigen is present. A complete line at the Control position indicates that the test is working properly.

STORAGE

Store all components at 2-8°C. Do not freeze or overheat. This product should not be used beyond the expiration date printed on the outer package label. Allow components to come to room temperature before use.

PRECAUTIONS

1. For *In Vitro* Diagnostic Use.
2. Directions should be read and followed carefully.
3. Reagents are provided at the necessary working strength. Do not dilute reagents.
4. Do not interchange reagents between kits of different lots.
5. Do not use reagents beyond the printed expiration dates.
6. Microbial contamination of reagents may decrease the accuracy of the assay.
7. Specimens may contain potentially infectious agents and should be handled at Biosafety Level 2 as recommended in the CDC/NIH manual, “Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories”.[11]
8. Do not concentrate specimens before testing.
9. Stool specimens preserved in PVA fixatives are not suitable for use.

Safety Precautions

The Specimen Dilution Buffer and Conjugate contain 0.1% sodium azide, which is classified per applicable European Economic Community (EEC) Directives as harmful (Xn). The appropriate Risk (R) and Safety (S) phrases can be found in the MSDS for this product.

SPECIMEN COLLECTION, STORAGE, AND TRANSPORT

Specimens collected for routine ova and parasite examination can be used with the Xpect® Giardia/Cryptosporidium. Stool specimens should be collected in clean, leak-proof plastic containers.

- Fresh, untreated stool specimens should be stored at 2-8°C and tested within 48 hours of collection. If fresh specimens cannot be tested within 48 hours, they should be frozen at -20°C or below in a non-defrosting freezer and tested within 2 months of collection. Avoid multiple freeze-thaw cycles.
- Stool specimens treated with 10% formalin or SAF fixatives may be refrigerated at 2-8°C or stored at room temperature (20-25°C) and should be tested within 2 months of collection.
- Stool specimens collected in modified Cary Blair Transport Medium with indicator (or equivalent) should be refrigerated and tested within 1 week of collection or frozen (as above) and tested within 2 months of collection. Avoid multiple freeze-thaw cycles.
- Stool specimens that have been concentrated or treated with PVA fixatives are not suitable for use with this test.

REAGENTS AND MATERIALS SUPPLIED — 20 Tests

1. **Test Devices (20):** Membrane striped with rabbit anti-*Giardia*, rabbit anti-*Cryptosporidium*, and goat anti-mouse IgG
2. **Conjugate (2.5 ml):** Dark-blue microparticles coated with anti-*Giardia* MAb, red microparticles coated with anti-*Cryptosporidium* MAb, dark-blue microparticles coated with mouse IgG
3. **Specimen Dilution Buffer (2.5 ml):** Buffered solution
4. **Procedure Card (1)**
5. **Disposable Transfer Pipettes (20):** Pipettes with marked graduations at 0.1 ml increments
6. **Dilution Tubes (20):** Tubes for specimen preparation
7. **Instructions For Use (IFU) (1)**

MATERIALS REQUIRED BUT NOT SUPPLIED

1. Stool specimen collection container
2. Timer that measures minutes
3. Demineralized water

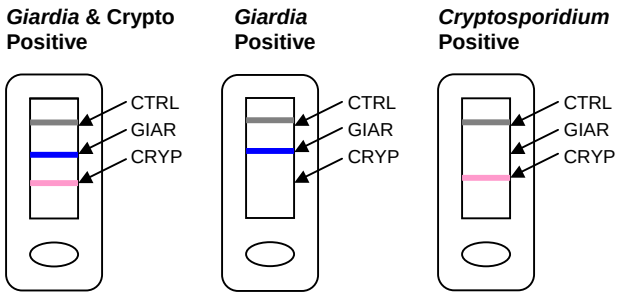
Optional materials not provided:
1. External positive and negative controls
2. Specimen transport media
3. Test tube rack

PREPARATION OF REAGENTS
Before use, allow all reagents to reach room temperature (20-25°C) and mix gently. Return the unused reagents to the refrigerator after use. All reagents are supplied ready-to-use in dropper bottles. Reagents are to be dispensed directly from the dropper bottles.

SPECIMEN PREPARATION
- Fresh (unpreserved) stool samples should be diluted 1:4 (e.g., 0.1 ml sample and 0.3 ml demineralized water) before testing.
- Specimens diluted in Formalin, SAF, or modified Cary-Blair transport media with indicator are used without further dilution.

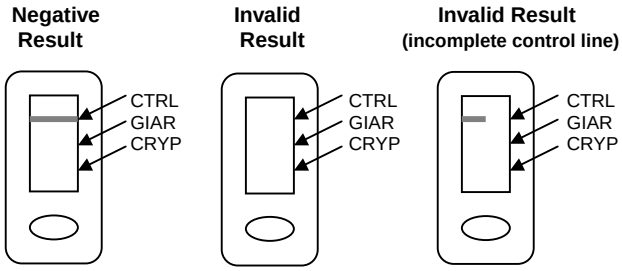
PROCEDURE
1. Remove the required number of devices from their individual foil pouches.
2. Label and place the required number of tubes in a rack. Add 4 full drops of Specimen Dilution Buffer to each tube.
3. Using the provided transfer pipette, transfer 0.1 ml (first molded graduated mark from the tip) of stool specimen to the tube. It is permissible to obtain primarily the liquid fraction of a specimen, avoiding any large pieces of insoluble debris. Mix the sample by aspirating with the transfer pipette.
4. Add 4 full drops of Conjugate to each tube. Mix using a transfer pipette.
5. Using the transfer pipette, immediately deliver 0.2 ml (second molded graduated mark from the tip) of diluted sample/conjugate mixture into the circular sample well of the test device.
6. Read assay results after 15 minutes. A positive result can be reported upon appearance of a complete control line. (Strong positive results may be apparent sooner than 15 minutes.) Results beyond 15 minutes are invalid.

INTERPRETATION
Refer to the enclosed Procedure Card.



***Giardia* - Positive Result:**
The specimen is positive for *Giardia* if a complete line is present at the CTRL position and a blue line is present at the GIAR position. A complete, clearly defined line of any blue color intensity should be interpreted as a positive result.

***Cryptosporidium* - Positive Result:**
The specimen is positive for *Cryptosporidium* if a complete line is present at the CTRL position and a red line is present at the CRYP position. A complete, clearly defined red line of any intensity (light pink to red) should be interpreted as a positive result.



***Giardia* - Negative Result:**
The specimen is negative for *Giardia* if a complete line is present at the CTRL position and no line is visible at the GIAR position.

***Cryptosporidium* - Negative Result:**
The specimen is negative for *Cryptosporidium* if a complete line is present at the CTRL position and no line is visible at the CRYP position.

Invalid Result
An invalid result occurs when:
a. CRYP line is incomplete at 15 minutes.
b. GIAR line is incomplete at 15 minutes.
c. CTRL line is absent or incomplete at 15 minutes.
If conditions (a), (b), or (c) is present, the specimen should be re-tested as follows:

Re-test Sample Preparation
Highly viscous samples and samples containing significant debris or mucous may display restricted flow along the device membrane and produce invalid test results. These samples should be further diluted and re-tested using the following procedure:
1. Combine in a sample tube 0.1 ml (4 drops) of Specimen Dilution Buffer and 0.1 ml of either (a) the primary sample in preservative or (b) the unpreserved sample diluted 1:4 with demineralized water. Mix the preparation by aspirating with the transfer pipette.
2. Use this as the prepared sample and repeat procedural steps 1-6.

QUALITY CONTROL
The appearance of a control line at the CTRL position verifies that an intact conjugate has been added to the device, that the control line antibody is functionally active, and that adequate capillary flow has occurred.

It is recommended that specimens, positive and negative for *Giardia* and *Cryptosporidium*, or Xpect® Giardia/Cryptosporidium Control Kit (REF 2450530) be run according to the test procedure with each new kit lot number. Each laboratory should follow their state and local requirements.

LIMITATIONS
1. The validity of results with the Xpect® Giardia/Cryptosporidium depends on the control reaction performing as expected. See "Quality Control".
2. A negative test result does not exclude the possibility of the presence of *Giardia* or *Cryptosporidium* and may occur when the antigen level in the sample is below the detection level of the test. Correlation between the amount of antigen in a sample and clinical presentation has not been established.
3. The presence of a Hook Effect in this assay has not been fully established. Samples evaluated containing high levels of target antigen and a high number of organisms did not yield a false negative result due to a Hook Effect.

4. As with all *in vitro* diagnostic tests, results should be interpreted by the clinician in conjunction with clinical findings and/or other laboratory results.
5. Proper specimen collection and processing are essential to achieving optimal performance of the assay. Optimal test results are obtained when specimens are tested as soon after collection as possible. See "Specimen Collection, Storage and Transport."
6. The analytical sensitivity of this assay has not been established using formed stool specimens.
7. Concentrations of 20% (v/v) Imodium® A-D may result in a false negative reaction when low levels of *Cryptosporidium* antigen are present.
8. Reactivity to species of *Cryptosporidium* other than *C. parvum* has not been established.

EXPECTED VALUES

Giardiasis is acquired by means of fecal-oral transmission or ingestion of contaminated water or food. Worldwide, *G. lamblia* is the most commonly identified parasite in stool specimens with a prevalence rate of 2-5%. The incidence of giardiasis is higher in children than in adults. In the United States, the asymptomatic carriage rate of *G. lamblia* is estimated to be 3-7%, with rates as high as 20% in southern regions and in children younger than 36 months who attend daycare centers.

C. parvum is transmitted by environmentally resistant oocysts that are fully sporulated and infective at the time they are passed in feces. The number of oocysts shed in stool may fluctuate and formed specimens usually contain fewer oocysts than diarrheic specimens.[12] Prevalence rates range from 1-3% in North America and Europe to 7-9% in less developed countries. Rates tend to be higher in children younger than two years of age and in persons with weakened immune systems.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Sensitivity and Specificity Compared to Microscopy

The performance of Xpect® Giardia/Cryptosporidium was evaluated at six geographically diverse laboratories. The overall sensitivity and specificity of the test was compared to microscopy on a single specimen. Performance relative to patients' clinical status has not been established. The overall sensitivity and specificity for *Giardia* and *Cryptosporidium* is listed below.

Giardia		**Microscopy**	
		+	**-**
Xpect®	**+**	92	7
	-	4	474
	Total	96	481

Sensitivity: 95.8% (92/96); 95% CI = 89.8-98.4%
Specificity: 98.5% (474/481); 95% CI = 97.0-99.3%

Cryptosporidium		**Microscopy**	
		+	**-**
Xpect®	**+**	108	7
	-	4	458
	Total	112	465

Sensitivity: 96.4% (108/112); 95% CI = 91.2-98.6%
Specificity: 98.5% (458/465); 95% CI = 96.9-99.3%

Note : CI = Confidence Interval

Upon initial testing, 17 specimens produced an invalid result (no control line). These specimens were re-tested (see "Re-test Procedure"). Fifteen of these samples produced valid results and are included in the data summary above. Two re-test samples produced invalid results (no control line) and were excluded from the study.

Percent Agreement: Xpect® & Predicate Device vs. Microscopy

Xpect® Giardia/Cryptosporidium and a commercially available lateral flow test (the "Predicate Device") were compared side-by-side to microscopy. The Percent Agreement of each assay versus microscopy was as follows:

Giardia		**Microscopy**		
		+	**–**	
Xpect®	**+**	19	5	
	–	2	120	**Agreement**
Total		21	125	**95.2%** (139/146)
Predicate	**+**	19	7	
	–	2	118	**Agreement**
Total		21	125	**93.8%** (137/146)

Cryptosporidium		**Microscopy**		
		+	**–**	
Xpect®	**+**	28	5	
	–	2	111	**Agreement**
Total		30	116	**95.2%** (139/146)
Predicate	**+**	29	21	
	–	1	95	**Agreement**
Total		30	116	**84.9%** (124/146)

Cross-reactivity

No cross-reactivity was observed using samples containing the following organisms: *Ascaris lumbricoides, Blastocystis hominis, Campylobacter coli, Campylobacter jejuni, Candida albicans, Chilomastix mesnili, Cyclospora cayetanensis, Dientamoeba fragilis, Endolimax nana, Entamoeba coli, Entamoeba hartmanni, Entamoeba histolytica, Enterobius vermicularis, Escherichia coli,* hookworm*, Hymenolepis nana, Iodamoeba bütschlii, Isospora* sp.*,* Microsporidia*,* Rotavirus*, Salmonella choleraesuis* subsp. *choleraesuis* serotype Typhimurium*, Shigella dysenteriae, Shigella flexneri, Shigella sonnei, Strongyloides stercoralis, Taenia* sp.*,* and *Trichuris trichiura.* There was no cross-reactivity of *Giardia lamblia* in the *Cryptosporidium* test area or of *Cryptosporidium parvum* in the *Giardia* test area. Cross-reactivity to Astrovirus and Caliciviruses has not been established.

Interfering Substances

Prior to testing, positive and negative samples were spiked (20% v/v) with blood, mucin, fecal fat, or the following over-the-counter anti-diarrheal products: Pepto-Bismol®, Imodium® A-D, and Kaopectate® (active ingredients: bismuth subsalicylate, loperamide HCl, and attapugite, respectively). Testing indicated that none of the substances assayed interfered with the expected result, except for Imodium® A-D. Imodium® A-D at 20% (v/v) in stool interfered with the detection of low levels of *Cryptosporidium* antigen.

Reproducibility

Reproducibility testing was conducted at seven sites, including one in-house site, on three separate days with ten blinded samples of varying activity. 100% of the 630 samples tested for *Giardia* and 630 samples tested for *Cryptosporidium* produced the expected result.

BIBLIOGRAPHY

1. Marshall, M.M., D. Naumovitz, Y. Ortega and C.R. Sterling. 1997. Clin. Microbiol. Rev. 10:67-85.
2. Adam, R. 2001. Clin. Microbiol. Rev. 14:447-475.
3. Gardner, T.B. and D.R. Hill. 2001. Clin. Microbiol. Rev. 14:114-128.
4. Upcroft, P. and J.A. Upcroft. 2001. Clin. Microbiol. Rev. 14:150-164.
5. Current, W.L. and L.S. Garcia. 1991. Clin. Microbiol. Rev. 4:325-358.
6. Clark, D.P. 1999. Clin. Microbiol. Rev. 12:554-563.
7. Garcia, L.S. and R.Y. Shimizu. 1997. J. Clin. Microbiol. 35:1526-1529.
8. Aldeen, W.E., K. Carroll, A. Robison, M. Morrison, and D. Hale. 1998. J. Clin. Microbiol. 36:1338-1340.
9. Chan, R., J. Chen, M.K. York, N. Setijono, R.L. Kaplan, F. Graham, and H.B. Tanowitz. 2000. J. Clin. Microbiol. 38:393-394.
10. Garcia, L.S., R.Y. Shimizu and C.N. Bernard. 2000. J. Clin. Microbiol. 38:3337-3340.
11. Richmond, J.Y. and R.W. McKinney. 1999. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. 4th ed. U.S. Dept. H.H.S., CDC and National Institutes of Health, Washington, D.C.
12. Garcia, L.S. 2001. Diagnostic Medical Parasitology. 4th ed. ASM Press, Washington, D.C.

PACKAGING

REF 2450520, Xpect® Giardia/Cryptosporidium……...20 Tests/Kit

Symbol Legend

REF	Catalog Number
IVD	In Vitro Diagnostic Medical Device
LAB	For Laboratory Use
	Consult Instructions for Use (IFU)
	Temperature Limitation (Storage Temp.)
LOT	Batch Code (Lot Number)
	Use By (Expiration Date)
EC REP	European Authorized Representative

CE

Xpect® is a registered trademark of Remel Inc.
Pepto-Bismol®, Imodium®, and Kaopectate® are registered trademarks of Procter & Gamble, McNeil Consumer & Specialty Pharmaceuticals, and Pharmacia & Upjohn Company, respectively.

IFU 2450520, Revised January 01, 2006 Printed in U.S.A

12076 Santa Fe Drive, Lenexa, KS 66215, USA
General Information: (800) 255-6730 Technical Service: (800) 447-3641 Order Entry: (800) 447-3635
Local/International Phone: (913) 888-0939 International Fax: (913) 895-4128
Website: www.remel.com Email: remel@remel.com

remel

Xpect® Giardia/Cryptosporidium

INDIKATIONEN
Remel Xpect® Giardia/Cryptosporidium-Kit ist ein qualitativer *In-vitro*-Immunoassay zum Nachweis des *Giardia*- und *Cryptosporidium*-Antigens in konservierten und nicht konservierten Stuhlproben. Dieser Test dient als Hilfsmittel zur Diagnose bei Verdacht auf *Giardia*- und *Cryptosporidium*-Infektionen.

ZUSAMMENFASSENDE ERKLÄRUNG
Giardiasis und Cryptosporidiosis zählen in den entwickelten Ländern zu den verbreitetsten parasitischen Intestinalerkrankungen.[1,2] Die Infektion erfolgt in der Regel über die Aufnahme von kontaminierten Speisen oder Trinkwasser. Für die Auswahl der Behandlungsmethode ist die Unterscheidung zwischen den beiden Erregern von Bedeutung.[3,4]

Giardia intestinalis, auch als *G. lamblia* oder *G. duodenalis* bekannt, kommt in zwei morphologischen Formen vor: als gegen Umwelteinflüsse resistente Zyste und als Trophozoit (Flagellat). Die intestinale Infektion geht beim Menschen mit akuter wässriger Diarrhöe, Abdominalkrämpfen, Malabsorption, Anorexie, Nausea, Gewichtsverlust und Tage- bis Wochen andauernder Flatulenz einher. Ebenso treten chronische oder asymptomatische Infektionen auf.

Der Erreger der Cryptosporidiosis in Menschen ist *Cryptosporidium parvum.* Gegen Umwelteinflüsse resistente Oozysten stellen die infektiöse Form des Organismus dar.[5,6] Symptome der akuten Erkrankung können Tage- bis Wochen andauernde wässrige Diarrhöe, Abdominalschmerz, Nausea, Erbrechen, schwaches Fieber und Übelkeit sein. Ebenso treten asymptomatische Infektionen auf.

Bei der Diagnose von *Giardia* und *Cryptosporidium*-Infektionen haben sich Immunoassays in Kombination mit mikroskopischen Untersuchungen bewährt.[7-10] Für jeden der Organismen charakteristische Antigene werden in den Stuhl des infizierten Patienten abgegeben. Durch den Nachweis dieser Antigene in Stuhlproben mittels Immunoassays, die Antikörper hochspezifisch binden, kann das Vorhandensein von *Giardia* oder *Cryptosporidium* bestätigt werden. Xpect® Giardia/Cryptosporidium ist ein schnelles, nicht-enzymatisches Immunoassay für den Nachweis des *Giardia* und *Cryptosporidium*-Antigens in konservierten und nicht konservierten Stuhlproben.

TESTPRINZIP
The Xpect® Giardia/Cryptosporidium ist ein chromatographisches Immunoassay zum Nachweis des *Giardia* und *Cryptosporidium*-Antigens. Der Test verwendet zum Binden des *Giardia* und *Cryptosporidium*-Antigens Mikrotiterstreifen, die auf einer Testlinie mit den Antigen-spezifischen Antikörpern für jeden dieser Organismen beschichtet sind. Einem Röhrchen mit Pufferlösung wird eine Probe hinzugefügt. Ein Konjugat mit gefärbten Mikropartikeln, an die für *Giardia* und *Cryptosporidium* spezifische monoklonale Mausantikörper gebunden sind, wird zugefügt. Die Mischung wird in den Probenschacht des Gerätes gegeben und breitet sich entlang einer Membran aus, die Antikörperstreifen zum Binden der Antigene enthält. Die *Giardia/Cryptosporidium*-Immunkomplexe reagieren bei Anwesenheit mit dem Anti-*Giardia*- bzw. Anti-*Cryptosporidium*-Antikörper auf der Testlinie. Mit Antikörpern markierte Mikropartikel, die nicht an die Testlinie gebunden haben, werden später an der Kontrolllinie, die Antimaus-Antikörper enthält, aufgefangen. Eine blaue Linie jeglicher Intensität erscheint bei Anwesenheit des *Giardia*-Antigens auf der *Giardia*-Teststelle und eine rote Linie jeglicher Intensität (von hellrosa bis rot) erscheint bei Anwesenheit des *Cryptosporidium*-Antigens auf der *Cryptosporidium*-Teststelle. Eine vollständige Linie an der Kontrollstelle zeigt an, das der Test ordnungsgemäß funktioniert hat.

LAGERUNG
Alle Komponenten bei 2-8°C lagern. Nicht einfrieren oder überhitzen. Dieses Produkt nicht nach Ablauf des Verfallsdatums verwenden (siehe Verpackungsaufdruck). Die Komponenten vor der Verwendung auf Raumtemperatur erwärmen lassen.

VORSICHTSMASSNAHMEN
1. Für die Verwendung in der *In-Vitro*-Diagnostik.
2. Die gegebenen Anweisungen sollten aufmerksam gelesen und genau befolgt werden.
3. Die Reagenzien werden in der erforderlichen Konzentration geliefert. Nicht verdünnen.
4. Die Reagenzien von Kits verschiedener Chargen dürfen nicht vertauscht werden.
5. Die Reagenzien nicht nach dem aufgedruckten Verfallsdatum verwenden.
6. Eine mikrobielle Kontaminierung von Reagenzien kann die Testgenauigkeit vermindern.
7. Die Proben können potenziell infektiöse Materialien enthalten. Ihre Handhabung sollte nach Empfehlung des CDC/NIH-Handbuchs „Biosafety in Microbiologal and Biomedical Laboratories“ mit der biologischen Sicherheitsstufe 2 erfolgen”.[11]
8. Die Proben vor dem Testen nicht konzentrieren.
9. Stuhlproben, die mit PVA-Fixiermitteln konserviert wurden, sind für die Verwendung nicht geeignet.

Sicherheitsmaßnahmen
Probenverdünnungspuffer und Konjugat enthalten 0,1% Natriumazid, das gemäß den entsprechenden EWG-Richtlinien (EEC) als schädlich (Xn) klassifiziert ist. Die entsprechenden Gefahren- (R) und Sicherheitshinweise (S) sind im Sicherheitsdatenblatt (MSDS) für dieses Produkt enthalten.

PROBENENTNAHME, LAGERUNG UND TRANSPORT
Stuhlproben, die für routinemäßige Ovum- und parasitologische Untersuchungen entnommen wurden, können mit Xpect® Giardia/Cryptosporidium verwendet werden. Die Stuhlproben sollten in sauberen, dicht verschlossen Plastikbehältern gesammelt werden.

- Frische, unbehandelten Stuhlproben sollten bei 2-8°C gelagert und innerhalb von 48 Stunden nach der Entnahme getestet werden. Wenn frische Proben nicht innerhalb von 48 Stunden getestet werden können, müssen sie bei -20°C eingefroren und innerhalb von 2 Monaten getestet werden. Mehrere Gefrier-Auftau-Zyklen vermeiden.
- Mit 10%-igem Formalin oder SAF-Fixiermitteln behandelte Stuhlproben können gekühlt bei 2-8°C oder bei Raumtemperatur (20-25°C) gelagert werden. Der Test muss innerhalb von 2 Monaten nach Entnahme erfolgen.
- Stuhlproben, die in modifiziertem Cary-Blair-Transportmedium mit Indikator (oder einem äquivalenten Mittel) gesammelt wurden, müssen gekühlt innerhalb einer Woche nach der Entnahme getestet oder eingefroren (siehe oben) innerhalb von zwei Wochen nach der Entnahme getestet werden. Mehrere Gefrier-Auftau-Zyklen vermeiden.
- Stuhlproben, die konzentriert oder mit PVA-Fixiermitteln behandelt wurden, sind für die Verwendung mit diesem Test nicht geeignet.

IM LIEFERUMFANG ENTHALTENE REAGENZIEN UND MATERIALIEN **20 Tests**
1. **Testgeräte (20):** Membranstreifen von Anti-*Giardia* sowie Anti-*Cryptosporidium*-IgG aus Kaninchen und Antimaus-IgG aus Ziege
2. **Konjugat (2,5 ml):** Dunkelblaue mit Anti-*Giardia*-MAb, rote mit Anti-*Cryptosporidium*-MAb und dunkelblaue mit Maus-IgG beschichtete Mikroteilchen
3. **Probenverdünnungspuffer (2,5 ml):** Pufferlösung
4. **Verfahrenskarte (1)**
5. **Einwegpipetten (20):** Pipetten mit Markierungen in 0,1 ml Stufen
6. **Probenröhrchen (20):** Röhrchen zur Probenvorbereitung
7. **Gebrauchsanweisung (IFU) (1)**

BENÖTIGTE MATERIALIEN
(NICHT IM LIEFERUMFANG ENTHALTEN)
1. Stuhlproben-Sammelbehälter
2. Messuhr (Minuten)
3. Entmineralisiertes Wasser

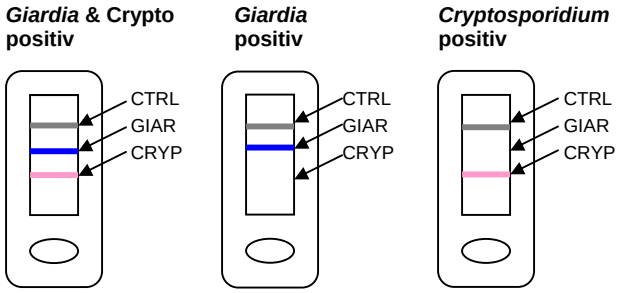
Optionale, nicht mitgelieferte Materialien:
1. Externe positive und negative Kontrollen
2. Probentransportmedien
3. Teströhrchen-Halter

VORBEREITUNG DER REAGENZIEN
Vor Verwendung alle Reagenzien auf Zimmertemperatur (20-25°C) bringen und leicht mischen. Die unbenutzten Reagenzien nach der Verwendung wieder in den Kühlschrank stellen. Alle Reagenzien werden gebrauchsbereit in Tropfflaschen geliefert. Die Reagenzien müssen unmittelbar aus den Tropfflaschen eingefüllt werden.

PROBENVORBEREITUNG
- Frische (unkonservierte) Stuhlproben müssen vor dem Test 1:4 verdünnt werden (z. B. 0,1 ml Stuhl auf 0,3 ml entmineralisiertes Wasser).
- In Formalin oder SAF gelöste Proben oder modifizierte Cary-Blair-Transportmedien mit Indikator werden unverdünnt angewendet.

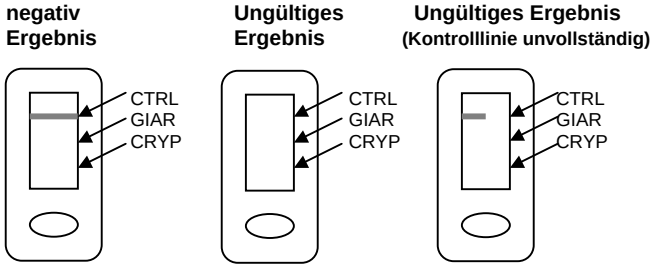
VERFAHREN
1. Benötigte Anzahl von Geräten aus ihren einzelnen Foliensäckchen auspacken.
2. Röhrchen beschriften und in einen Halter stellen. In jedes Röhrchen vier ganze Tropfen Probenverdünnungspuffer zugeben.
3. Mit der mitgelieferten Transferpipette 0,1 ml (erste geprägte Markierung unterhalb der Spitze) Stuhlprobe in das Röhrchen geben. Hierbei ist es zulässig, vorwiegend flüssige Probenanteile zu verwenden, anstatt größerer Stücke unlöslicher Partikel. Präparat durch Aspiration mit der Pipette mischen.
4. Jedem Röhrchen vier ganze Tropfen Konjugat zugeben. Mit Transferpipette mischen.
5. Mit der Transferpipette sofort 0,2 ml (zweite geprägte Markierung unterhalb der Spitze) gelöster Proben/Konjugatmischung in den kreisförmigen Probenschacht des Testgerätes geben.
6. Testergebnisse nach 15 Minuten ablesen. Bei einer vollständigen Kontrolllinie kann von einem positiven Ergebnis gesprochen werden. (Ausgeprägt positive Ergebnisse können vor Ablauf von 15 Minuten angezeigt werden.) Später als nach 15 Minuten abgelesene Ergebnisse sind ungültig.

INTERPRETATION
Siehe beigefügte Verfahrenskarte.



***Giardia* - Positives Ergebnis:**
Die Probe ist für *Giardia* positiv, wenn an der CTRL-Stelle eine vollständige Linie und an der GIAR-Stelle eine dunkelblaue Linie erscheinen. Bereits eine vollständige, deutlich sichtbare blaue Linie beliebiger Intensität muss als positives Ergebnis interpretiert werden.

***Cryptosporidium* - Positives Ergebnis:**
Die Probe ist für *Cryptosporidium* positiv, wenn an der CTRL-Stelle eine vollständige Linie und an der CRYP-Stelle eine rote Linie erscheinen. Bereits eine vollständige, deutlich sichtbare rote Linie beliebiger Intensität (hellrosa bis rot) muss als positives Ergebnis interpretiert werden.



***Giardia* - Negatives Ergebnis:**
Die Probe ist für *Giardia* negativ, wenn an der CTRL-Stelle eine vollständige Linie erscheint, an der GIAR-Stelle dagegen keine Linie.

***Cryptosporidium* - Negatives Ergebnis:**
Die Probe ist für *Cryptosporidium* negativ, wenn an der CTRL-Stelle eine vollständige Linie erscheint, an der CRYP-Stelle dagegen keine Linie.

Ungültiges Ergebnis
Ein ungültiges Ergebnis liegt dann vor, wenn:
a. die CRYP-Linie nach 15 Minuten unvollständig ist.
b. die GIAR-Linie nach 15 Minuten unvollständig ist.
c. die CTRL-Linie nach 15 Minuten fehlt oder unvollständig ist.
Falls (a), (b) oder (b) zutreffen, muss die Probe folgendermaßen neu getestet werden:

Vorbereitung der Proben zum erneuten Test
Hochviskose oder muköse Proben sowie Proben mit erheblichem Partikelanteil können die Verteilung der Probe entlang der Gerätemembran behindern und ungültige Testergebnisse verursachen. Solche Proben müssen weiter verdünnt und nach folgendem Verfahren erneut getestet werden:
1. In einem Probenröhrchen 0,1 ml (4 Tropfen) Probenverdünnungspuffer und 0,1 ml (a) der konservierten Erstprobe oder (b) der unkonservierten und 1:4 mit entmineralisiertem Wasser verdünnten Probe mischen. Präparat durch Aspiration mit der Pipette mischen.
2. Mit dieser Mischung als vorbereitete Probe die Verfahrensschritte 1-6 wiederholen.

QUALITÄTSKONTROLLE
Das Erscheinen einer Kontrolllinie an der CTRL-Stelle bestätigt, dass das eingefüllte Konjugat intakt ist, die Antikörper der Kontrolllinie funktional aktiv sind und ein adäquater Kapillarfluss stattgefunden hat.

Es wird empfohlen *Giardia* und *Cryptosporidium*-positive und -negative Proben oder den Xpect® Giardia/Cryptosporidium-Kontroll-Kit (REF 2450530) mit jeder neuen Chargennummer des Kontroll-Kits nach dem hier vorgestellten Verfahren zu testen. Jedes Labor sollte dabei den jeweiligen staatlichen und lokalen Bestimmungen folgen.

EINSCHRÄNKUNGEN
1. Die Zuverlässigkeit der Testergebnisse des Xpect® Giardia /Cryptosporidium-Tests ist abhängig davon, ob die Kontrollreaktion erwartungsgemäß erfolgt. Siehe Abschnitt „Qualitätskontrolle".
2. Ein negatives Testergebnis schließt die Möglichkeit des Vorhandenseins von *Giardia* oder *Cryptosporidium* nicht aus; dieser Fall kann eintreten, wenn die Antigenkonzentration der Probe unterhalb der messbaren Konzentration des Tests liegt. Es wurde keine Korrelation zwischen der Anzahl von Antigenen in einer Probe und dem klinischen Bild festgestellt.

3. Das Auftreten eines Hook-Effekts in diesem Test konnte nicht zweifelsfrei nachgewiesen werden. Ausgewertete Proben mit hohen Konzentrationen an Zielantigen und hoher Anzahl von Organismen haben kein falsch negatives Ergebnis aufgrund eines Hook-Effektes ergeben.
4. Wie bei allen diagnostischen *In-vitro*-Tests sollten die Ergebnisse zusammen mit den klinischen Befunden und/oder anderen Labortests ausgewerten werden.
5. Die ordnungsgemäße Probenentnahme und -verarbeitung sind entscheidend für eine optimale Durchführung des Tests. Optimale Testergebnisse werden mit Proben erzielt, die sobald wie möglich nach der Entnahme getestet werden. Siehe Abschnitt „Probenentnahme, Lagerung und Transport".
6. Die analytische Sensitivität dieses Assays wurde nicht bei festen Stuhlproben ermittelt.
7. Konzentrationen von 20% (v/v) Imodium® AD können bei geringen Mengen des *Cryptosporidium*-Antigens zu einer falschen negativen Reaktion führen.
8. Die Reaktivität von anderen *Cryptosporidium*-Arten als *C. parvum* wurde nicht ermittelt.

ZU ERWARTENDE WERTE

Giardiasis wird durch fäkal-orale Übertragung oder Aufnahme von kontaminierter Nahrung oder Trinkwasser erworben. Weltweit ist *G. lamblia* der am häufigsten in Stuhlproben identifizierte Parasit mit einer Prävalenzrate von 2-5%. Bei Kindern tritt Giardiasis häufiger auf, als bei Erwachsenen. In den USA wird die asymptomatische Trägerrate von *G. lamblia* auf 3-7% geschätzt, wobei in den südlichen Gebieten und bei Kindergartenkindern bis zum Alter von 36 Monaten eine Trägerrate von bis zu 20 % auftreten kann.

C parvum wird durch gegen Umwelteinflüsse resistente Oozysten übertragen, die reife Sporen gebildet haben und zum Zeitpunkt ihrer Abgabe in den Stuhl infektiös sind. Die Anzahl der in den Stuhl abgegeben Oozysten kann schwanken. Fester Stuhl enthält im Gegensatz zu wässrigem Stuhl in der Regel weniger Oozysten.[12] Prävalenzraten reichen von 1-3% in Nordamerika und Europa bis zu 7-9% in weniger entwickelten Ländern. Die Raten sind bei Kindern unter zwei Jahren und bei Personen mit geschwächtem Immunsystem im Allgemeinen höher.

LEISTUNGSMERKMALE

Sensitivität und spezifische Eigenschaft im Vergleich zur Mikroskopie

Die Leistung von Xpect® Giardia/Cryptosporidium wurde an sechs geographisch voneinander getrennten Laboratorien bewertet. Die Sensitivität und Spezifität des Tests insgesamt wurde anhand einer einzelnen Probe mit der Mikroskopie verglichen. Die am klinischen Status von Patienten gemessene Leistung wurde nicht ermittelt. Die Sensitivität und Spezifität für *Giardia* und *Cryptosporidium* insgesamt ist im Folgenden aufgeführt.

Giardia		**Mikroskopie**	
		+	**-**
Xpect®	**+**	92	7
	-	4	474
	Gesamt	96	481

Sensitivität: 95,8% (92/96), 95% CI = 89,8-98,4%
Spezifität: 98,5% (474/481), 95% CI = 97,0-99,3%

Cryptosporidium		**Mikroskopie**	
		+	**-**
Xpect®	**+**	108	7
	-	4	458
	Gesamt	112	465

Sensitivität: 96,4% (108/112), 95% CI = 91,2-98,6%
Spezifität: 98,5% (458/465), 95% CI = 96,9-99,3%

Hinweis: CI = Konfidenzintervall

Bei den anfänglichen Tests lieferten 17 Proben ein ungültiges Ergebnis (keine Kontrolllinie). Diese Proben wurden erneut getestet (siehe "Vorbereitung der Proben zum erneuten Test"). Fünfzehn dieser Proben lieferten gültige Ergebnisse und wurden in die oben angegebene Datenzusammenstellung aufgenommen. Zwei erneut getestete Proben lieferten ungültige Ergebnisse (keine Kontrolllinie) und wurden aus dieser Studie ausgeschlossen.

Prozentuale Übereinstimmung Xpect® & Vergleichsgerät (Predicate Device) gegenüber Mikroskopie

Xpect® Giardia/Cryptosporidium und ein herkömmlich erhältlicher Lateral-Flow-Test (das „Vergleichsgerät") wurden jeweils mit der Mikroskopie verglichen. Die prozentuale Übereinstimmung jedes Assays gegenüber der Mikroskopie ergab Folgendes:

Giardia		**Mikroskopie**		
		+	**–**	
Xpect®	**+**	19	5	
	–	2	120	**Übereinstimmung**
Gesamt		21	125	**95,2 %** (139/146)
Vergleichsgerät	**+**	19	7	
	–	2	118	**Übereinstimmung**
Gesamt		21	125	**93,8 %** (137/146)

Cryptosporidium		**Mikroskopie**		
		+	**–**	
Xpect®	**+**	28	5	
	–	2	111	**Übereinstimmung**
Gesamt		30	116	**95,2 %** (139/146)
Vergleichsgerät	**+**	29	21	
	–	1	95	**Übereinstimmung**
Gesamt		30	116	**84,9 %** (124/146)

Kreuzreaktivität

Bei Proben mit folgenden Organismen wurde keine Kreuzreaktivität beobachtet: *Ascaris lumbricoides, Blastocystis hominis, Campylobacter coli, Campylobacter jejuni, Candida albicans, Chilomastix mesnili, Cryptosporidium parvum, Cyclospora cayetanensis, Dientamoeba fragilis, Endolimax nana, Entamoeba coli, Entamoeba hartmanni, Entamoeba histolytica, Enterobius vermicularis, Escherichia coli,* Hakenwürmer*, Hymenolepis nana, Iodamoeba bütschlii, Isospora* sp.*,* Microsporidia*,* Rotavirus*, Salmonella choleraesuis* subsp. *Choleraesuis* - Serotyp Typhimurium*, Shigella dysenteriae, Shigella flexneri, Shigella sonnei, Strongyloides stercoralis, Taenia* sp. und *Trichuris trichiura.* Sowohl bei *Giardia lamblia* im *Cryptosporidium*-Testbereich, als auch bei *Cryptosporidium parvum* im *Giardia*-Testbereich wurde keine Kreuzreaktivität festgestellt. Kreuzreaktivität mit Astroviren und Caliciviren wurde nicht festgestellt.

Störende Substanzen

Vor dem Test wurden die positiven und negativen Proben zu 20% (v/v) mit Blut, Muzin, Stuhlfett oder den folgenden frei verkäuflichen Antidiarrhoika versetzt: Pepto-Bismol®, Imodium® AD und Kaopectate® (wirksame Bestandteile: Bismuth-Subsalicylat, Loperamid-HCl bzw. Attapugit). Im Test ließ sich mit Ausnahme von Imodium® AD kein Einfluss dieser Substanzen auf die erwarteten Ergebnisse nachweisen. 20% (v/v) Imodium® AD wirkte sich in Stuhlproben beim Nachweis geringer Konzentrationen des *Cryptosporidium*-Antigens störend aus.

Wiederholbarkeit

Die Wiederholbarkeit der Testergebnisse wurde an sieben Orten (davon einem im Hause) an drei verschiedenen Tagen mit zehn Blindproben verschiedener Aktivität durchgeführt. 100% der 630 auf *Giardia* und der 630 auf *Cryptosporidium* getesteten Proben lieferten die erwarteten Ergebnisse.

LITERATURVERWEISE

1. Marshall, M.M., D. Naumovitz, Y. Ortega and C.R. Sterling. 1997. Clin. Microbiol. Rev. 10:67-85.
2. Adam, R. 2001. Clin. Microbiol. Rev. 14:447-475.
3. Gardner, T.B. and D.R. Hill. 2001. Clin. Microbiol. Rev. 14:114-128.
4. Upcroft, P. and J.A. Upcroft. 2001. Clin. Microbiol. Rev. 14:150-164.
5. Current, W.L. and L.S. Garcia. 1991. Clin. Microbiol. Rev. 4:325-358.
6. Clark, D.P. 1999. Clin. Microbiol. Rev. 12:554-563.
7. Garcia, L.S. and R.Y. Shimizu. 1997. J. Clin. Microbiol. 35:1526-1529.
8. Aldeen, W.E., K. Carroll, A. Robison, M. Morrison, and D. Hale. 1998. J. Clin. Microbiol. 36:1338-1340.
9. Chan, R., J. Chen, M.K. York, N. Setijono, R.L. Kaplan, F. Graham, and H.B. Tanowitz. 2000. J. Clin. Microbiol. 38:393-394.
10. Garcia, L.S., R.Y. Shimizu and C.N. Bernard. 2000. J. Clin. Microbiol. 38:3337-3340.
11. Richmond, J.Y. and R.W. McKinney. 1999. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. 4th ed. U.S. Dept. H.H.S., CDC and National Institutes of Health, Washington, D.C.
12. Garcia, L.S. 2001. Diagnostic Medical Parasitology. 4th ed. ASM Press, Washington, D.C.

PACKUNGSINHALT

REF 2450520, Xpect® Giardia/Cryptosporidium……...20 Tests/Kit

Symbollegende

REF	Katalognummer
IVD	Medizinisches Gerät für die In-vitro-Diagnostik
LAB	Für den Laborbedarf
	Gebrauchsanweisung beachten (IFU)
	Temperaturbereich (Lagerungstemperatur)
LOT	Chargenbezeichnung (Chargennummer)
	Verwendbar bis (Verfallsdatum)
EC REP	Autorisierte Vertretung für EU-Länder

CE

Xpect® ist eine eingetragene Marke der Remel Inc.
Pepto-Bismol®, Imodium® und Kaopectat® sind eingetragene Marken der Procter & Gamble, McNeil Consumer & Specialty Pharmaceuticals bzw. Pharmacia & Upjohn Company.

IFU 2450520. Überarbeitete Fassung vom 01.01.2006 Printed in U.S.A.

12076 Santa Fe Drive, Lenexa, KS 66215, USA
Allgemeine Informationen: (800) 255-6730 (nur innerh. USA) Technischer Kundendienst: (800) 447-3641 (nur innerh. USA) Bestellungen: (800) 447-3635
Rufnummer national/international: +1 (913) 888-0939 Faxnummer international: +1 (913) 895-4128
Website: www.remel.com E-Mail: remel@remel.com

remel

Xpect® Giardia/Cryptosporidium

INDICATION

Le kit Giardia/Cryptosporidium Xpect® de Remel est un dosage immunologique qualitatif *in vitro* permettant de détecter des antigènes de *Giardia* et de *Cryptosporidium* dans des échantillons fécaux fixés ou non. Ce test est conçu pour faciliter le diagnostic en laboratoire d'infections par *Giardia* et *Cryptosporidium* suspectées.

RÉSUMÉ ET EXPLICATION

Dans les pays développés, la lambliase et la cryptosporidiose figurent parmi les causes les plus courantes de maladie intestinale parasitaire.[1,2] L'infection se produit généralement par ingestion de nourriture ou d'eau potable contaminée. Il est important de faire la distinction entre les deux agents causaux pour sélectionner des options de traitement appropriées.[3,4]

Giardia intestinalis, également connue sous le nom de *G. lamblia* ou *G. duodenalis*, existe sous deux formes morphologiques différentes : un kyste résistant à l'environnement et un trophozoïte flagellé. L'organisme est associé à des infections intestinales humaines caractérisées par une diarrhée liquide aiguë, des crampes abdominales, une mauvaise assimilation, de l'anorexie, des nausées, une perte de poids, ainsi que des flatulences durant plusieurs jours, voire pendant des semaines. Des infections chroniques ou asymptomatiques peuvent également se produire.

L'agent causal de la cryptosporidiose chez l'homme est le *Cryptosporidium parvum*. Les oocystes résistants à l'environnement constituent la forme transmissible de l'organisme.[5,6] Parmi les symptômes de la maladie aiguë peuvent figurer la diarrhée liquide, les douleurs abdominales, les nausées, les vomissements, des fièvres modérées et des malaises durant de plusieurs jours à plus d'un mois. Des infections asymptomatiques peuvent également se produire.

Les dosages immunologiques sont devenus des compléments d'usage aux examens microscopiques dans le diagnostic de l'infection par *Giardia et Cryptosporidium*.[7-10] Des antigènes spécifiques caractéristiques de chaque organisme sont rejetés dans les selles des patients infectés. La détection de ces antigènes dans les échantillons fécaux par des dosages immunologiques comprenant des anticorps hautement spécifiques peut confirmer la présence de *Giardia* ou de *Cryptosporidium*. Le Giardia/Cryptosporidium Xpect® est un dosage immunologique non enzymatique rapide conçu pour détecter la présence d'antigènes de *Giardia* et de *Cryptosporidium* dans des échantillons fécaux fixés ou non.

PRINCIPE

Le Giardia/Cryptosporidium Xpect® est un dosage immunologique chromatographique qui permet de détecter la présence des antigènes de *Giardia et de Cryptosporidium*. Le test utilise la migration de l'échantillon par capillarité pour capturer les antigènes de *Giardia* et de *Cryptosporidium* sur une ligne de test isolée contenant des anticorps spécifiques des antigènes pour chaque organisme. Un échantillon est ajouté à un tube de dilution contenant une solution tamponnée. Un conjugué contenant des microparticules colorées liées aux anticorps monoclonaux murins spécifiques de *Giardia* et de *Cryptosporidium* est ajouté. Le mélange est transféré dans le puits d'échantillon du dispositif et migre le long d'une membrane contenant des bandes d'anticorps de capture. S'ils sont présents, les complexes immuns de *Giardia/Cruptosporidium* réagissent avec l'anticorps anti-*Giardia* et/ou l'anticorps anti-*Cryptosporidium* à la ligne de test. Les microparticules marquées avec les anticorps qui ne sont pas liées aux lignes de test sont capturées ultérieurement à la ligne de contrôle contenant un anticorps anti-souris. Une ligne bleue, quelle que soit son intensité, apparaîtra à la position de test de *Giardia* si l'antigène *Giardia* est présent et une ligne rouge, quelle que soit son intensité (rose clair à rouge), apparaîtra à la position de test de *Cryptosporidium* si l'antigène *Cryptosporidium* est présent. Une ligne complète en position Contrôle indique que le test fonctionne correctement.

STOCKAGE

Conserver tous les composants entre 2 et 8°C. Ne pas congeler ou surchauffer. Ce produit ne doit pas être utilisé après la date de péremption imprimée sur l'étiquette de l'emballage. Attendre que les composants soient à température ambiante avant de les utiliser.

PRÉCAUTIONS

1. Pour utilisation diagnostique *in vitro.*
2. Toutes les instructions doivent être lues attentivement et scrupuleusement respectées.
3. Les réactifs sont fournis prêts à l'emploi, à la concentration voulue. Ne pas diluer les réactifs.
4. Les réactifs provenant de kits de différents lots ne sont pas interchangeables.
5. Ne pas utiliser les réactifs après la date de péremption.
6. La contamination microbienne des réactifs peut diminuer la précision du test.
7. Les échantillons peuvent contenir des agents potentiellement infectieux et doivent être manipulés conformément aux procédures de biosécurité de niveau 2 (BSL2) exposées dans le manuel publié par le CDC et le NIH (*Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*).[11]
8. Ne pas concentrer les échantillons avant de les tester.
9. Les échantillons de selles conservés dans des fixateurs à base de PVA (alcool polyvinylique) ne sont pas utilisables.

Précautions de sécurité

Le tampon de dilution des échantillons et le conjugué contiennent 0,1% d'azoture de sodium qui est classé par les directives européennes (CEE) applicables comme dangereux (Xn). Les mentions relatives aux risques (R) et à la sécurité (S) sont indiquées dans la fiche technique de sécurité (MSDS) de ce produit.

RECUEIL, STOCKAGE ET TRANSPORT DE PRÉLÈVEMENTS

Les échantillons recueillis pour une recherche de routine d'œufs et de parasites peuvent être utilisés avec le Giardia/Cryptosporidium Xpect®. Ces échantillons doivent être placés dans des récipients en plastique propres et étanches.

- Les échantillons de selles frais non traités doivent être stockés entre 2 et 8°C et être examinés dans les 48 heures. S'il est impossible de tester les échantillons frais dans les 48 heures, ils doivent être congelés dans un congélateur sans dégivrage à au moins -20°C et analysés dans les 2 mois suivant le prélèvement. Éviter les décongélations et recongélations répétées.
- Les prélèvements de selles traités avec des fixateurs contenant du SAF (sodium-acétate-formol) ou du formol à 10 % peuvent être réfrigérés (2 à 8°C) ou conservés à température ambiante (20 à 25°C) et doivent être testés dans les deux mois suivant le prélèvement.
- Les échantillons de selles recueillis dans des milieux de transport Cary-Blair modifiés avec un indicateur (ou équivalent) doivent être réfrigérés et testés dans la semaine suivant le prélèvement ou congelés (comme ci-dessus) et testés dans les deux mois suivant le prélèvement. Éviter les décongélations et recongélations répétées.
- Les échantillons de selles ayant été concentrés ou traités avec des fixateurs à base de PVA (alcool polyvinylique) ne sont pas utilisables avec ce test.

RÉACTIFS ET MATÉRIEL FOURNIS **20 tests**

1. **Dispositifs de test (20):** Membrane enduite d'anti-*Giardia* de lapin et d'anti-*Cryptosporidium* de lapin et contenant une IgG caprine anti-souris
2. **Conjugué (2,5 ml):** Microparticules bleu foncé enduites d'anti-*Giardia* MAb, microparticules rouges enduites d'anti-*Cryptosporidium* MAb et microparticules bleu foncé enduites d'IgG de souris
3. **Tampon de dilution des échantillons (2,5 ml):** Solution tamponnée
4. **Fiche de procédure (1)**
5. **Pipettes de transfert jetables (20):** Les pipettes sont graduées tous les 0,1 ml
6. **Tubes de dilution (20):** Tubes pour préparation des échantillons
7. **Mode d'emploi (IFU) (1)**

MATÉRIEL REQUIS NON FOURNI

1. Pot pour prélèvement des échantillons de selles
2. Minuteur
3. Eau déminéralisée

Accessoires facultatifs non fournis:

1. Contrôles externes positifs et négatifs
2. Milieux de transport d'échantillons
3. Support de tubes à essai

PRÉPARATION DES RÉACTIFS

Avant utilisation, amener tous les réactifs à température ambiante (20 à 25°C) et mélanger doucement. Remettre les réactifs non utilisés dans le réfrigérateur après utilisation. Tous les réactifs sont fournis prêts à l'emploi dans des flacons compte-gouttes. Les réactifs doivent être transférés directement à partir des flacons compte-gouttes.

PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS

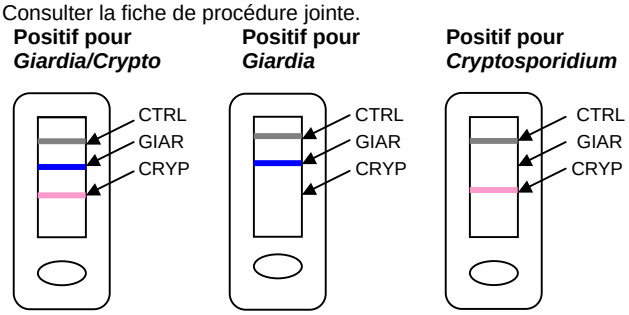
- Les échantillons de selles frais (non fixés) doivent être dilués au 1/4 (par ex. 0,1 ml d'échantillon et 0,3 ml d'eau déminéralisée) avant d'être testés.
- Les échantillons dilués dans du formol, du SAF ou dans des milieux de transport Cary-Blair modifiés avec un indicateur sont utilisés sans autre dilution.

PROCÉDURE

1. Sortir le nombre requis de dispositifs de leurs sachets métallisés individuels.
2. Etiqueter et placer le nombre requis de tubes sur un support. Ajouter 4 gouttes de tampon de dilution des échantillons dans chaque tube.
3. A l'aide de la pipette de transfert fournie, verser 0,1 ml (première graduation en partant de la pointe) de l'échantillon de selles dans le tube. Il est autorisé d'obtenir en premier la fraction liquide d'un échantillon en évitant les grands morceaux de débris insolubles. Mélanger l'échantillon en aspirant avec la pipette de transfert.
4. Ajouter 4 gouttes de conjugué dans chaque tube. Mélanger à l'aide d'une pipette de transfert.
5. A l'aide de la pipette de transfert, verser immédiatement 0,2 ml (deuxième graduation en partant de la pointe) du mélange échantillon/conjugué dilué dans le puits d'échantillon circulaire du dispositif de test.
6. Lire les résultats après 15 minutes. Un résultat positif peut être rapporté si une ligne de contrôle complète apparaît. (Des résultats clairement positifs peuvent être visibles avant le délai de 15 minutes.) Les résultats ne sont pas valides au-delà de 15 minutes.

INTERPRÉTATION

Consulter la fiche de procédure jointe.

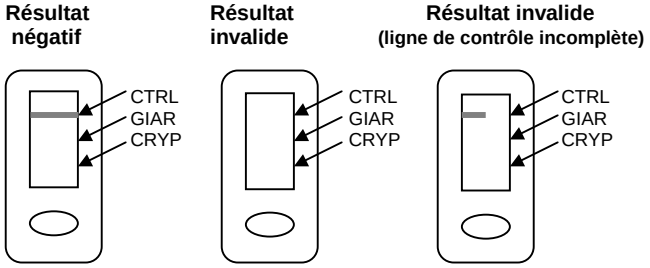


***Giardia* - Résultat positif:**

L'échantillon est positif pour *Giardia* si une ligne complète s'affiche en position CTRL et si la ligne bleue se trouve en position GIAR. Une ligne complète et clairement définie, quelle que soit l'intensité de son bleu, doit être interprétée comme un résultat positif.

***Cryptosporidium* - Résultat positif:**

L'échantillon est positif pour *Cryptospridium* si une ligne complète s'affiche en position CTRL et si la ligne rouge se trouve en position CRYP. Une ligne complète et clairement définie, quelle que soit l'intensité de son rouge (rose clair à rouge), doit être interprétée comme un résultat positif.



***Giardia* - Résultat négatif:**

L'échantillon est négatif à la *Giardia* si une ligne complète s'affiche en position CTRL et qu'aucune ligne n'est visible en position GIAR.

***Cryptosporidium* - Résultat négatif:**

L'échantillon est négatif au *Cryptosporidium* si une ligne complète s'affiche en position CTRL et qu'aucune ligne n'est visible en position CRYP.

Résultat invalide

Un résultat est invalide lorsque :

a. La ligne CRYP est incomplète au bout de 15 minutes
b. La ligne GIAR est incomplète au bout 15 minutes
c. La ligne CTRL n'apparaît pas ou est incomplète au bout de 15 minutes

Si la condition (a), (b) ou (c) est présente, l'échantillon doit être à nouveau testé comme suit:

Préparation des échantillons pour un nouveau test

Les échantillons très visqueux et les échantillons contenant de nombreux débris ou étant très muqueux peuvent présenter une migration réduite le long de la membrane du dispositif et produire des résultats de test invalides. Ces échantillons doivent être davantage dilués et testés à nouveau selon la procédure suivante:

1. Associer dans un tube d'échantillon 0,1 ml (4 gouttes) de tampon de dilution des échantillons et 0,1 ml (a) du premier échantillon dans le conservateur ou (b) de l'échantillon non fixé et dilué au 1/4 avec de l'eau déminéralisée. Mélanger la préparation en aspirant avec la pipette de transfert.
2. Utiliser cette préparation comme l'échantillon préparé et répéter les étapes 1 à 6 de la procédure.

CONTRÔLE DE QUALITÉ

L'apparition d'une ligne de contrôle en position CTRL permet de vérifier qu'un conjugué intact a été ajouté au dispositif, que l'anticorps de la ligne de contrôle est actif et que la migration capillaire s'est produite correctement.

Il est recommandé de tester les échantillons positifs et négatifs pour *Giardia* et pour *Cryptosporidium* ou un kit de contrôle Giardia/Cryptosporidium Xpect® (REF 2450530) selon la procédure, avec chaque nouveau numéro de lot de kit. Il incombe à chaque laboratoire de s'assurer du respect des réglementations nationales et locales en vigueur.

LIMITES

1. La validité des résultats offerte par le Giardia/Cryptosporidium Xpect® dépend de la conformité de la réaction des contrôles avec les réactions prévues. Voir « Contrôle de qualité ».
2. Un résultat de test négatif n'exclut pas la possibilité de la présence de *Giardia* ou *Cryptosporidium* et peut provenir de la présence dans l'échantillon d'un taux d'antigène inférieur au seuil de détection du test. Aucune corrélation entre le taux d'antigène dans un échantillon et le tableau clinique n'a été établie.
3. Aucun effet crochet n'a été complètement établi dans ce dosage. Les échantillons évalués contenant des taux élevés d'antigène cible et un grand nombre d'organismes n'ont pas provoqué de faux négatif en raison d'un effet crochet.
4. Comme pour tout test de diagnostic *in vitro*, les résultats doivent être interprétés par le clinicien en tenant compte des signes cliniques et/ou des autres analyses de laboratoire.
5. La qualité du prélèvement et du traitement des échantillons est essentielle pour un fonctionnement optimal du test. Les résultats optimaux sont obtenus sur les échantillons testés aussitôt que possible après le prélèvement. Voir « Prélèvement, conservation et transport des échantillons ».
6. La sensibilité analytique de ce dosage n'a pas été établie à l'aide des échantillons de selles moulées.
7. La concentration de 20% (v/v) d'Imodium® A-D peut donner lieu à une fausse réaction négative lorsque les taux d'antigène *Cryptosporidium* sont faibles.
8. Aucune réactivité aux espèces de *Cryptosporidium* autre que le *C. Parvum* n'a été établie.

VALEURS ATTENDUES

La lambliase est acquise par transmission oro-fécale ou par ingestion d'eau ou de nourriture contaminée. Dans le monde, la *G. lamblia* est le parasite le plus souvent identifié dans les échantillons de selles, avec un taux de prévalence de 2 à 5%. L'incidence de la lambliase est plus élevée chez les enfants que chez les adultes. Aux Etats-Unis, le taux de portage asymptomatique de la *G. lamblia* est estimé à 3-7%, avec des taux s'élevant à 20% dans les régions du sud et chez les enfants de moins de 36 mois qui fréquentent les crèches.

Le *C. parvum* est transmis par les oocystes résistants à l'environnement qui sont entièrement sporulés et infectieux lorsqu'ils passent dans les selles. Le nombre d'oocystes rejetés dans les selles peut fluctuer et les échantillons de selles moulées contiennent généralement moins d'oocystes que les échantillons diarrhéiques.[12] Les taux de prévalence vont de 1 à 3% en Amérique du Nord et en Europe et de 7 à 9% dans les pays moins développés. Ces proportions ont tendance à être plus élevées chez les enfants de moins de deux ans et chez les personnes dont le système immunitaire est affaibli.

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE

Sensibilité et spécificité comparées avec celles de la microscopie

Les performances du Giardia/Cryptosporidium Xpect® ont été évaluées par six laboratoires géographiquement éloignés. La sensibilité générale et la spécificité du test ont été comparées à la microscopie d'un échantillon unique. Les performances relatives à l'état clinique du patient n'ont pas été établies. La sensibilité générale et la spécificité de la *Giardia* et du *Cryptosporidium* sont indiquées ci-dessous.

Giardia		**Microscopie**	
		+	**-**
Xpect®	**+**	92	7
	-	4	474
	Total	96	481

Sensibilité: 95,8% (92/96); 95% IC = 89,8-98,4%
Spécificité: 98,5% (474/481); 95% IC = 97,0-99,3%

Cryptosporidium		**Microscopie**	
		+	**-**
Xpect®	**+**	108	7
	-	4	458
	Total	112	465

Sensibilité: 96,4% (108/112); 95% IC = 91,2-98,6%
Spécificité: 98,5% (458/465); 95% IC = 96,9-99,3%

Remarque : IC = Intervalle de confiance

Au début du test, 17 échantillons ont produit un résultat invalide (aucune ligne de contrôle). Ces échantillons ont été à nouveau testés (voir « Procédure de nouveau test »). Quinze de ces échantillons ont produit des résultats valides et ont été inclus dans le résumé de données ci-dessus. Deux échantillons ayant subi un nouveau test ont produit des résultats invalides (aucune ligne de contrôle) et ont été exclus de l'étude.

Pourcentage de concordance: Xpect® et Dispositif Predicate versus Microscopie

Le Giardia/Cryptosporidium Xpect® et un test de flux latéral disponible dans le commerce (le « Dispositif Predicate ») ont été comparés côte à côte à la microscopie. Le pourcentage de concordance de chaque dosage par rapport à la microscopie est indiqué ci-après :

Giardia		**Microscopie**		
		+	**–**	
Xpect®	**+**	19	5	
	–	2	120	**Concordance**
Total		21	125	**95,2 %** (139/146)
Dispositif	**+**	19	7	
	–	2	118	**Concordance**
Total		21	125	**93,8 %** (137/146)

Cryptosporidium		**Microscopie**		
		+	**–**	
Xpect®	**+**	28	5	
	–	2	111	**Concordance**
Total		30	116	**95,2 %** (139/146)
Dispositif	**+**	29	21	
	–	1	95	**Concordance**
Total		30	116	**84,9 %** (124/146)

Réactivité croisée
Aucune réactivité croisée n'a été observée avec des échantillons contenant les organismes suivants : *Ascaris lumbricoides, Blastocystis hominis, Campylobacter coli, Campylobacter jejuni, Candida albicans, Chilomastix mesnili, Cyclospora cayetanensis, Dientamoeba fragilis, Endolimax nana, Entamoeba coli, Entamoeba hartmanni, Entamoeba histolytica, Enterobius vermicularis, Escherichia coli,* ankylostome*, Hymenolepis nana, Iodamoeba bütschlii, Isospora* sp.*,* microsporidie*,* rotavirus*,* Typhimurium sérotype *Salmonella choleraesuis* subsp. *choleraesuis, Shigella dysenteriae, Shigella flexneri, Shigella sonnei, Strongyloides stercoralis, Taenia* sp. et *Trichuris trichiura.* Il n'y a eu aucune réactivité croisée de la *Giardia lamblia* dans la zone de test du *Cryptosporidium* ou du *Cryptosporidium parvum* dans la zone de test de *Giardia*. Aucune réactivité croisée avec l'astrovirus et les calicivirus n'a été établie.

Substances interférentes
Avant le test, les échantillons positifs et négatifs ont été enrichis (20 % v/v) avec du sang, de la mucine, de la graisse fécale ou les produits anti-diarrhéiques en vente libre suivants: Pepto-Bismol®, Imodium® A-D et Kaopectate® (principes actifs: bismuth subsalicylate, lopéramide HCl et attapugite, respectivement). Le test a indiqué qu'aucune substance dosée n'a interféré avec le résultat attendu, sauf pour l'Imodium® A-D. L'Imodium® A-D à 20% (v/v) dans les selles a interféré avec la détection de faibles taux d'antigènes *Cryptosporidium*.

Reproductibilité
Des tests de reproductibilité ont été effectués sur sept sites, dont un site interne, sur trois jours, avec dix échantillons en aveugle d'activité variable. Cent pour cent des 630 échantillons testés pour vérifier la présence de *Giardia* et des 630 échantillons testés pour vérifier la présence de *Cryptosporidium* ont produit le résultat attendu.

BIBLIOGRAPHIE

1. Marshall, M.M., D. Naumovitz, Y. Ortega and C.R. Sterling. 1997. Clin. Microbiol. Rev. 10:67-85.
2. Adam, R. 2001. Clin. Microbiol. Rev. 14:447-475.
3. Gardner, T.B. and D.R. Hill. 2001. Clin. Microbiol. Rev. 14:114-128.
4. Upcroft, P. and J.A. Upcroft. 2001. Clin. Microbiol. Rev. 14:150-164.
5. Current, W.L. and L.S. Garcia. 1991. Clin. Microbiol. Rev. 4:325-358.
6. Clark, D.P. 1999. Clin. Microbiol. Rev. 12:554-563.
7. Garcia, L.S. and R.Y. Shimizu. 1997. J. Clin. Microbiol. 35:1526-1529.
8. Aldeen, W.E., K. Carroll, A. Robison, M. Morrison, and D. Hale. 1998. J. Clin. Microbiol. 36:1338-1340.
9. Chan, R., J. Chen, M.K. York, N. Setijono, R.L. Kaplan, F. Graham, and H.B. Tanowitz. 2000. J. Clin. Microbiol. 38:393-394.
10. Garcia, L.S., R.Y. Shimizu and C.N. Bernard. 2000. J. Clin. Microbiol. 38:3337-3340.
11. Richmond, J.Y. and R.W. McKinney. 1999. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. 4th ed. U.S. Dept. H.H.S., CDC and National Institutes of Health, Washington, D.C.
12. Garcia, L.S. 2001. Diagnostic Medical Parasitology. 4th ed. ASM Press, Washington, D.C.

CONDITIONNEMENT
REF 2450520, Xpect® Giardia/Cryptosporidium……....20 tests/kit

Légende des symboles

REF	Numéro de référence
IVD	Dispositif médical de diagnostic in vitro
LAB	Pour utilisation en laboratoire
	Lire le mode d'emploi (IFU)
	Limites de température (stockage)
LOT	Code de lot (numéro de lot)
	À utiliser avant le (date de péremption)
EC REP	Représentant autorisé pour l'UE

CE

Xpect® est une marque déposée de Remel Inc.
Pepto-Bismol®, Imodium® et Kaopectate® sont respectivement des marques déposées de Procter & Gamble, McNeil Consumer & Specialty Pharmaceuticals et Pharmacia & Upjohn Company.

IFU 2450520, révisée le 01.01.2006 Imprimée aux Etats-Unis

12076 Santa Fe Drive, Lenexa, KS 66215, États-Unis
Renseignements : (800) 255-6730 Service technique : (800) 447-3641 Service commercial : (800) 447-3635
Téléphone national/international : +1 913 888-0939 Télécopie (international) : (913) 895-4128
Site Web : www.remel.com E-mail : remel@remel.com

remel

Xpect® Giardia/Cryptosporidium

USO PREVISTO
Il kit Remel Xpect® Giardia/Cryptosporidium è un saggio immunologico qualitativo *in vitro* per la rilevazione di antigeni *Giardia* e *Cryptosporidium* in campioni fecali conservati e non conservati. Questo test è indicato per l'uso come ausilio nella diagnosi in laboratorio di sospette infezioni da *Giardia* e *Cryptosporidium*.

DESCRIZIONE DEL PRODOTTO
La giardiasi e la criptosporidiosi sono tra le cause più comuni di patologie intestinali parassitarie nei paesi sviluppati.[1,2] L'infezione avviene generalmente tramite l'ingestione di cibo o acqua contaminati. La distinzione tra i due agenti responsabili è importante per la scelta del trattamento adeguato.[3,4]

La *Giardia intestinalis*, detta anche *G. lamblia* o *G. duodenalis,* è presente in due differenti forme morfologiche: cisti resistente all'ambiente e trofozoita flagellato. L'organismo è associato a infezioni intestinali nell'essere umano caratterizzate da sintomi quali diarrea acquosa acuta, crampi addominali, malassorbimento, anoressia, nausea, perdita di peso e flatulenza che possono durare da parecchi giorni a settimane. Possono inoltre verificarsi infezioni croniche o asintomatiche.

L'agente responsabile della criptosporidiosi umana è il *Cryptosporidium parvum.* Gli oocisti resistenti all'ambiente rappresentano la forma trasmissibile dell'organismo.[5,6] I sintomi della malattia acuta possono includere diarrea acquosa, dolore addominale, nausea, vomito, febbricola e malessere e possono durare da diversi giorni a oltre un mese. Possono inoltre verificarsi infezioni asintomatiche.

Gli immunodosaggi costituiscono un ottimo supporto addizionale all'esame microscopico nella diagnosi di infezioni da *Giardia* e *Cryptosporidium*.[7-10] Gli antigeni specifici dell'organismo sono diffusi tramite le feci dei pazienti infetti. La rilevazione di questi antigeni nei campioni fecali tramite immunodosaggi contenenti anticorpi altamente specifici può confermare la presenza di *Giardia* o *Cryptosporidium*. Xpect® Giardia/Cryptosporidium è un immunodosaggio non enzimatico rapido, studiato per rilevare la presenza di antigeni di *Giardia* e *Cryptosporidium* in campioni fecali con o senza conservante.

PRINCIPIO
Xpect® Giardia/Cryptosporidium è un immunodosaggio cromatografico che rileva la presenza di antigeni *Giardia* e *Cryptosporidium*. Il test utilizza un supporto imbevuto di campione per catturare gli antigeni di *Giardia* e *Cryptosporidium* su una linea di test discreta contenente anticorpi specifici dell'antigene per ciascun organismo. Un campione viene trasferito in una provetta di diluizione contenente una soluzione tampone. Viene aggiunto un coniugato contenente microparticelle colorate legate agli anticorpi monoclonali murini specifici per *Giardia* e *Cryptosporidium*. La miscela viene dispensata nel pozzetto per campione del dispositivo e si imbeve lungo una membrana contenente strisce di anticorpi di cattura. Se presenti, gli immunocomplessi di *Giardia/Cryptosporidium* reagiscono con l'anticorpo anti-*Giardia* e/o con l'anticorpo anti-*Cryptosporidium* sulla linea di test. Le microparticelle coniugate con l'anticorpo non legate nelle linee di test vengono in seguito catturate sulla linea di controllo contenente l'anticorpo anti-murino. In presenza di antigene *Giardia*, appare una linea blu di qualunque intensità nella posizione di test *Giardia*, mentre in presenza di antigene *Cryptosporidium* apparirà una linea rossa di qualunque intensità (da rosa chiaro a rosso) nella posizione di test *Cryptosporidium*. Una linea completa nella posizione di controllo indica che il test sta funzionando correttamente.

CONDIZIONI DI CONSERVAZIONE
Conservare tutti i componenti a 2-8°C. Non congelare né surriscaldare. Questo prodotto non deve essere usato oltre la data di scadenza stampata sull'etichetta esterna della confezione. Portare i componenti a temperatura ambiente prima dell'uso.

PRECAUZIONI
1. Per uso diagnostico *in vitro*.
2. Leggere con attenzione le istruzioni contenute in questo documento e seguirle scrupolosamente.
3. I reagenti sono già diluiti in modo ottimale e non devono essere diluiti ulteriormente.
4. Non scambiare alcun reagente di un kit con altri di un lotto differente.
5. Non utilizzare reagenti scaduti.
6. La contaminazione batterica dei reagenti può ridurre la precisione del saggio.
7. I campioni possono contenere agenti potenzialmente infettivi e quindi devono essere maneggiati come agenti biologici di gruppo 2 come indicato nella guida CDC/NIH, “Biosafety in Microbiology and Biomedical laboratories”.[11]
8. Non sottoporre i campioni a procedure di concentrazione prima del saggio.
9. I campioni fecali conservati con fissativi PVA non sono adatti all'uso.

Precauzioni di sicurezza
La soluzione tampone per diluizione del campione e il coniugato contengono lo 0,1% di sodio azide, sostanza classificata come nociva (Xn) dalle pertinenti direttive CEE. Le frasi appropriate concernenti il rischio (R) e la sicurezza (S) sono disponibili nella scheda di sicurezza dei materiali relativa a tale prodotto.

RACCOLTA, CONSERVAZIONE E TRASPORTO DEI CAMPIONI
Con Xpect® Giardia/Cryptosporidium possono essere usati i campioni fecali raccolti per l'esame parassitologico tradizionale. I campioni fecali devono essere prelevati utilizzando contenitori di plastica puliti e a prova di perdite.

- I campioni fecali freschi e non trattati devono essere conservati a 2 -8°C ed esaminati entro 48 ore dalla raccolta. Nel caso in cui non sia possibile esaminare i campioni freschi nel giro di 48 ore, essi possono venire congelati a una temperatura di -20°C o inferiore in un freezer non a sbrinamento automatico ed esaminati entro 2 mesi dalla raccolta. Evitare ripetuti cicli di congelamento e scongelamento.
- I campioni fecali fissati con formalina al 10% o con SAF possono essere refrigerati a 2-8°C o conservati a temperatura ambiente (20-25°C) e devono essere esaminati entro 2 mesi dal prelievo.
- I campioni fecali raccolti in terreno di trasporto Cary Blair modificato con indicatore (o equivalente) devono essere refrigerati e analizzati entro 1 settimana dalla raccolta o congelati (come sopra indicato) e analizzati entro 2 mesi dal prelievo. Evitare ripetuti cicli di congelamento e scongelamento.
- I campioni fecali sottoposti a concentrazione o trattati con fissativo PVA (alcool polivinilico) non sono idonei per questo test.

REAGENTI E MATERIALI FORNITI **20 analisi**
1. **Dispositivi per test (20):** membrana dotata di strisce con IgG anti-*Giardia* di coniglio, anti-*Cryptosporidium* di coniglio e anti-topo di capra
2. **Coniugato (2,5 ml):** microparticelle blu scuro rivestite con Mab anti-*Giardia*, microparticelle rosse rivestite con Mab anti-*Cryptosporidium*, microparticelle blu scuro rivestite con IgG di topo
3. **Soluzione tampone per diluizione del campione (2,5 ml):** soluzione tampone
4. **Scheda grafica di procedura (1)**
5. **Pipette di trasferimento monouso (20):** pipette graduate ad intervalli di 0,1 ml
6. **Provette per diluizione (20):** provette per la preparazione dei campioni
7. **Istruzioni per l'uso (IFU) (1)**

MATERIALE NECESSARIO MA NON FORNITO
1. Contenitore per la raccolta dei campioni fecali
2. Cronometro timer
3. Acqua demineralizzata

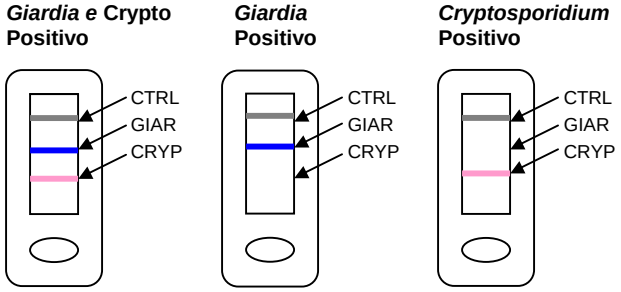
Materiali opzionali non forniti:
1. Controlli positivi e negativi esterni
2. Terreni di trasporto per campioni
3. Rack per provette di test

PREPARAZIONE DEI REAGENTI
Prima dell'uso, portare tutti i reagenti a temperatura ambiente (20–25°C) e agitarli delicatamente. Dopo l'uso rimettere in frigorifero i reagenti non utilizzati. Tutti i reagenti sono forniti pronti per l'uso e forniti in flaconi contagocce. I reagenti devono essere dispensati direttamente dai flaconi contagocce.

PREPARAZIONE DEI CAMPIONI
- I campioni fecali freschi (non conservati) devono essere diluiti 1:4 (ad esempio: 0,1 ml di campione e 0,3 ml di acqua demineralizzata) prima del test.
- I campioni diluiti in formalina, SAF o terreno di trasporto Cary Blair modificato con indicatore vengono usati senza ulteriore diluizione.

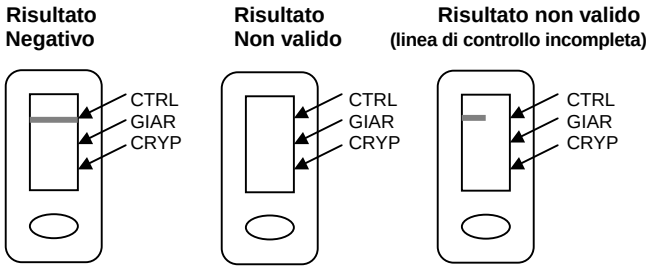
PROCEDIMENTO
1. Prelevare il numero necessario di dispositivi dalle singole confezioni.
2. Etichettare e inserire il numero necessario di provette nel rack. Aggiungere 4 gocce intere di soluzione tampone per campioni in ciascuna provetta.
3. Utilizzando la pipetta di trasferimento fornita, trasferire 0,1 ml (prima tacca graduata incisa dalla punta) di campione fecale nella provetta. È consentito prelevare principalmente la parte liquida del campione, evitando eventuali accumuli di detriti insolubili. Miscelare il campione aspirando con la pipetta di trasferimento.
4. Aggiungere 4 gocce intere di coniugato in ciascuna provetta. Miscelare con la pipetta di trasferimento.
5. Con la pipetta di trasferimento, dispensare immediatamente 0,2 ml (seconda tacca graduata dalla punta) di miscela diluita di campione/coniugato nel pozzetto circolare per campione del dispositivo per test.
6. Leggere i risultati del saggio dopo 15 minuti. Un risultato positivo è osservabile al comparire di una linea di controllo completa (risultati fortemente positivi possono essere evidenti già prima di 15 minuti). I risultati oltre i 15 minuti non saranno più validi.

INTERPRETAZIONE
Fare riferimento alla scheda grafica di procedura allegata.



***Giardia* – Risultato positivo:**
Il campione è positivo a *Giardia* quando nella posizione CTRL è presente una linea completa e nella posizione GIAR è presente una linea blu. Una linea blu di qualunque intensità, completa e chiaramente definita indica un risultato positivo.

***Cryptosporidium* – Risultato positivo:**
Il campione è positivo a *Cryptosporidium* quando nella posizione CTRL è presente una linea completa e nella posizione CRYP è presente una linea rossa. Una linea rossa di qualunque intensità (da rosa chiaro a rosso), completa e chiaramente definita indica un risultato positivo.



***Giardia* – Risultato negativo:**
Il campione è negativo a *Giardia* quando nella posizione CTRL è presente una linea completa e nella posizione GIAR non è visibile alcuna linea.

***Cryptosporidium* – Risultato negativo:**
Il campione è negativo a *Cryptosporidium* quando nella posizione CTRL è presente una linea completa e nella posizione CRYP non è visibile alcuna linea.

Risultato non valido
Un risultato non valido si verifica nei seguenti casi:
a. dopo 15 minuti la linea CRYP è incompleta.
b. dopo 15 minuti la linea GIAR è incompleta.
c. dopo 15 minuti la linea CTRL è assente o incompleta.

In presenza delle condizioni (a), (b) o (c), il campione deve essere rianalizzato come segue:

Preparazione del campione per un secondo test
I campioni ad alta viscosità o contenenti una quantità eccessiva di detriti o mucosa possono mostrare un flusso limitato lungo la membrana del dispositivo e produrre risultati di test non validi. Tali campioni devono essere ulteriormente diluiti e riesaminati secondo la procedura di seguito indicata:
1. In una provetta combinare 0,1 ml (4 gocce) di soluzione tampone per diluizione del campione e 0,1 ml di (a) campione primario con conservante o (b) di campione non conservato diluito 1:4 con acqua demineralizzata. Miscelare il preparato aspirando con la pipetta di trasferimento.
2. Utilizzare questo preparato e ripetere i punti 1-6 della procedura.

CONTROLLO QUALITÀ
La comparsa di una linea di controllo nella posizione CTRL conferma che è stato aggiunto un coniugato intatto al dispositivo, che l'anticorpo della linea di controllo è funzionalmente attivo e che si è verificato un flusso capillare appropriato.

È opportuno che i campioni positivi e negativi a *Giardia* e *Cryptosporidium*o o il kit di controllo Xpect® Giardia/Cryptosporidium (REF 2450530) siano esaminati secondo la procedura con ciascun nuovo numero di lotto. Ogni laboratorio deve attenersi ai requisiti statali e locali vigenti.

LIMITAZIONI
1. La validità dei risultati con Xpect® Giardia/Cryptosporidium è confermata se la reazione di controllo fornisce il risultato atteso. Vedere la sezione Controllo Qualità.
2. Un risultato negativo non esclude completamente la presenza di Giardia o *Cryptosporidium*: ciò si verifica quando il livello di antigene presente nel campione è inferiore alla soglia di sensibilità del test. Non è stata stabilita la correlazione tra quantità di antigene nel campione e quadro clinico.
3. La presenza di un effetto gancio in questo dosaggio non è stata completamente determinata. I campioni valutati contenenti elevati livelli di antigene target e un numero elevato di organismi non hanno fornito un risultato falso negativo dovuto a un effetto gancio.
4. Come per tutti gli altri test diagnostici *in vitro*, i risultati devono essere interpretati dal medico, tenendo conto del quadro clinico e/o dei risultati di altri esami di laboratorio.

5. Un corretto prelievo e un appropriato trattamento del campione sono essenziali per ottenere prestazioni ottimali con questo test. I risultati sono tanto più affidabili quanto più rapidamente il campione è trattato dopo il prelievo. Fare riferimento alla sezione Raccolta, conservazione e trasporto dei campioni.
6. La sensibilità analitica di questo saggio non è stata determinata usando campioni fecali formati.
7. Concentrazioni del 20% (v/v) di Imodium® A-D possono produrre una reazione falsa negativa in presenza di bassi livelli di antigene *Cryptosporidium*.
8. Non è stata stabilita la reattività a specie di *Cryptosporidum* diverse da *C. parvum*.

VALORI ATTESI

La giardiasi si contrae tramite trasmissione oro-fecale o ingestione di acqua o cibi contaminati. A livello mondiale, *G. lamblia* è il parassita più comunemente identificato nei campioni fecali con una prevalenza del 2-5%. L'incidenza di giardiasi è maggiore nei bambini che negli adulti. Negli Stati Uniti, il tasso di trasporto asintomatico di *G. lamblia* è stimato intorno al 3-7%, con picchi del 20% nelle regioni meridionali e nei bambini di età inferiore ai 36 mesi che frequentano asili nido.

Il *C. parvum* si trasmette per mezzo di oocisti resistenti all'ambiente completamente sporulati e infettivi nel momento in cui passano nelle feci. Il numero di oocisti diffuso nelle feci può fluttuare e i campioni formati generalmente contengono meno oocisti rispetto ai campioni diarroici.[12] I tassi di prevalenza variano da 1-3% in Nord America ed Europa a 7-9% nei paesi meno sviluppati. Le percentuali tendono ad essere superiori nei bambini di età inferiore ai due anni e nelle persone con sistema immunitario indebolito.

CARATTERISTICHE DI ESECUZIONE

Sensibilità e specificità rispetto al microscopio

Le caratteristiche di Xpect® Giardia/Cryptosporidium sono state valutate in laboratori di sei aree geografiche diverse. Le caratteristiche di sensibilità e specificità globali del test sono state confrontate al microscopio su un singolo campione. Le caratteristiche relative allo stato clinico del paziente non sono state determinate. Di seguito vengono elencate la sensibilità e la specificità globali di *Giardia* e *Cryptosporidium*.

Giardia		**Microscopio**	
		+	**-**
Xpect®	**+**	92	7
	-	4	474
	Totale	96	481

Sensibilità: 95,8% (92/96); 95% CI = 89,8-98,4%
Specificità: 98,5% (474/481); 95% CI = 97,0-99,3%

Cryptosporidium		**Microscopio**	
		+	**-**
Xpect®	**+**	108	7
	-	4	458
	Totale	112	465

Sensibilità: 96,4% (108/112); 95% CI = 91,2-98,6%
Specificità: 98,5% (458/465); 95% CI = 96,9-99,3%

Nota: CI = Confidence Interval (= intervallo di confidenza)

Durante il test iniziale, 17 campioni hanno fornito risultati non validi (nessuna linea di controllo). Tali campioni sono stati riesaminati (vedere la sezione Preparazione del campione per un secondo test). Quindici di questi campioni hanno fornito risultati validi e sono stati inclusi nel riepilogo dati precedente. Due campioni riesaminati hanno fornito risultati non validi (nessuna linea di controllo) e sono stati esclusi dallo studio.

Concordanza percentuale: Xpect® e metodo approvato rispetto all'esame microscopico

Xpect® Giardia/Cryptosporidium e un test di flusso laterale disponibile in commercio ("metodo approvato") sono stati confrontati parallelamente all'esame microscopico. La concordanza percentuale di ciascun dosaggio rispetto all'esame microscopico è la seguente:

Giardia		**Microscopio**		
		+	**–**	
Xpect®	**+**	19	5	
	–	2	120	**Concordanza**
Totale		21	125	**95,2%** (139/146)
Approvato	**+**	19	7	
	–	2	118	**Concordanza**
Totale		21	125	**93,8%** (137/146)

Cryptosporidum		**Microscopio**		
		+	**–**	
Xpect®	**+**	28	5	
	–	2	111	**Concordanza**
Totale		30	116	**95,2%** (139/146)
Approvato	**+**	29	21	
	–	1	95	**Concordanza**
Totale		30	116	**84,9%** (124/146)

Reattività crociata

Non è stata osservata alcuna reattività crociata utilizzando campioni contenenti i seguenti organismi: *Ascaris lumbricoides, Blastocystis hominis, Campylobacter coli, Campylobacter jejuni, Candida albicans, Chilomastix mesnili, Cyclospora cayetanensis, Dientamoeba fragilis, Endolimax nana, Entamoeba coli, Entamoeba hartmanni, Entamoeba histolytica, Enterobius vermicularis, Escherichia coli,* anchilostomi*, Hymenolepis nana, Iodamoeba bütschlii, Isospora* sp.*,* Microsporidia*, r*otavirus*, Salmonella choleraesuis* subsp. *choleraesuis* serotipo Typhimurium*, Shigella dysenteriae, Shigella flexneri, Shigella sonnei, Strongyloides stercoralis, Taenia* sp. e *Trichuris trichiura.* Non è stata osservata alcuna reattività crociata di *Giardia lamblia* nell'area di test *Cryptosporidium* o di *Cryptosporidium parvum* nell'area di test *Giardia*. Non è stata determinata reattività crociata con Astrovirus e Calicivirus.

Sostanze interferenti

Prima del test, ai campioni positivi e negativi sono stati aggiunti (20% v/v) sangue, mucina, grasso fecale o i seguenti prodotti anti-diarroici da banco: Pepto-Bismol®, Imodium® A-D e Kaopectate® (componenti attivi: rispettivamente subsalicilato di bismuto, loperamide HCl e attapulgite). Il test ha mostrato che nessuna delle sostanze esaminate ha interferito con il risultato previsto, ad eccezione di Imodium® A-D. Imodium® A-D al 20% (v/v) nelle feci ha interferito con la rilevazione di bassi livelli di antigene *Cryptosporidium*.

Riproducibilità

Le analisi di riproducibilità sono state condotte in sette siti, compreso un sito interno, in tre giorni separati con dieci campioni ciechi ad attività variabile. Il 100% dei 630 campioni analizzati per la rilevazione di *Giardia* e dei 630 campioni analizzati per la rilevazione di *Cryptosporidium* ha prodotto i risultati previsti.

BIBLIOGRAFIA

1. Marshall, M.M., D. Naumovitz, Y. Ortega and C.R. Sterling. 1997. Clin. Microbiol. Rev. 10:67-85.
2. Adam, R. 2001. Clin. Microbiol. Rev. 14:447-475.
3. Gardner, T.B. and D.R. Hill. 2001. Clin. Microbiol. Rev. 14:114-128.
4. Upcroft, P. and J.A. Upcroft. 2001. Clin. Microbiol. Rev. 14:150-164.
5. Current, W.L. and L.S. Garcia. 1991. Clin. Microbiol. Rev. 4:325-358.
6. Clark, D.P. 1999. Clin. Microbiol. Rev. 12:554-563.
7. Garcia, L.S. and R.Y. Shimizu. 1997. J. Clin. Microbiol. 35:1526-1529.
8. Aldeen, W.E., K. Carroll, A. Robison, M. Morrison, and D. Hale. 1998. J. Clin. Microbiol. 36:1338-1340.
9. Chan, R., J. Chen, M.K. York, N. Setijono, R.L. Kaplan, F. Graham, and H.B. Tanowitz. 2000. J. Clin. Microbiol. 38:393-394.
10. Garcia, L.S., R.Y. Shimizu and C.N. Bernard. 2000. J. Clin. Microbiol. 38:3337-3340.
11. Richmond, J.Y. and R.W. McKinney. 1999. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. 4th ed. U.S. Dept. H.H.S., CDC and National Institutes of Health, Washington, D.C.
12. Garcia, L.S. 2001. Diagnostic Medical Parasitology. 5th ed. ASM, Washington, D.C.

CONFEZIONE

RIF 2450520, Xpect® Giardia/Cryptosporidium……...20 Test/Kit

Spiegazioni dei simboli

REF	Codice numero
IVD	Dispositivo per uso diagnostico *in vitro*
LAB	Per uso in laboratorio
	Consultare le istruzioni per l'uso (IFU)
	Limitazioni per temperatura (Temp. di conservazione)
LOT	Codice lotto (Numero lotto)
	Da utilizzare entro (data di scadenza)
EC REP	Rappresentante autorizzato per l'Europa

CE

Xpect® è un marchio registrato di Remel Inc.
Pepto-Bismol®, Imodium® e Kaopectate® sono marchi registrati rispettivamente di Procter & Gamble, McNeil Consumer & Specialty Pharmaceuticals e Pharmacia & Upjohn Company.

IFU 2450520, Data ultima revisione: 01.01.2006 Stampato negli U.S.A.

12076 Santa Fe Drive, Lenexa, KS 66215, USA
Informazioni generali (800) 255-6730 Servizio assistenza: (800) 447-3641 Accettazione ordini: (800) 447-3635
Tel. locale/internazionale (913) 888-0939 Fax internazionale: (913) 895-4128
Sito Web: www.remel.com Indirizzo posta elettronica: remel@remel.com

remel

Xpect® Giardia/Cryptosporidium

USO PREVISTO
El kit Xpect® Giardia/Cryptosporidium es un inmunoanálisis cualitativo *in vitro* para la detección de antígenos de *Giardia* y *Cryptosporidium* en muestras de materia fecal, con y sin conservante. Este análisis está diseñado para facilitar el diagnóstico en laboratorio de presuntas infecciones por *Giardia* y *Cryptosporidium*.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN
La giardiasis y la criptosporidiosis se encuentran entre las causas más comunes de las enfermedades intestinales parasitarias en los países desarrollados.[1,2] Generalmente, la infección se produce por la ingestión de alimentos o agua contaminada. Es importante distinguir entre los dos agentes causales para poder seleccionar las opciones de tratamiento adecuadas.[3,4]

Giardia intestinalis, también conocida como *G. lamblia* o *G. duodenalis,* existe en dos formas morfológicas diferentes: un quiste resistente al medio ambiente y un trofozoíto flagelado. El microorganismo está asociado a infecciones intestinales en humanos, caracterizadas por diarrea líquida aguda, cólicos, malabsorción, anorexia, náuseas, pérdida de peso y flatulencia que puede durar desde varios días a varias semanas. Las infecciones también pueden ser crónicas o asintomáticas.

El agente causal de la criptosporidiosis en humanos es *Cryptosporidium parvum.* Los oocistos resistentes al medio ambiente representan la forma transmisora del microorganismo.[5,6] Los síntomas de la enfermedad aguda pueden ser diarrea líquida, dolor abdominal, náuseas, vómitos, fiebre baja y malestar, que pueden durar desde varios días a más de un mes. Las infecciones también pueden ser asintomáticas.

Los inmunoanálisis han llegado a ser buenos complementos de los exámenes microscópicos en el diagnóstico de la infección por *Giardia* y *Cryptosporidium.*[7-10] Los antígenos característicos específicos de cada microorganismo se encuentran en las heces de los pacientes infectados. La detección de estos antígenos en muestras de materia fecal mediante inmunoanálisis con anticuerpos altamente específicos puede confirmar la presencia de *Giardia* o *Cryptosporidium*. El kit Xpect® Giardia/Cryptosporidium es un inmunoanálisis no enzimático rápido para la detección de antígenos de *Giardia* y *Cryptosporidium* en muestras de materia fecal, con y sin conservante.

PRINCIPIO
El kit Xpect® Giardia/Cryptosporidium es un inmunoanálisis cromatográfico que detecta la presencia de antígenos de *Giardia* y *Cryptosporidium*. El análisis utiliza la absorción de muestras para capturar los antígenos de *Giardia* y *Cryptosporidium* en discretas líneas de análisis con anticuerpos específicos del antígeno, dirigidos contra cada microorganismo. Se añade una muestra a un tubo de dilución con solución tamponada. Se añade un conjugado con micropartículas de colores unidas a anticuerpos monoclonales murinos específicos de *Giardia* y *Cryptosporidium*. La mezcla se dispensa en el pocillo de la muestra del dispositivo y es absorbida por una membrana que contiene una tira de anticuerpos de captura. Si están presentes, los inmunocomplejos de *Giardia/Cryptosporidium* reaccionan con anticuerpo anti-*Giardia* o anti-*Cryptosporidium* en la línea de análisis. Las micropartículas marcadas con anticuerpos que no se hayan unido en las líneas de análisis se capturarán más tarde en la línea de control que contiene anticuerpo antirratón. Si el antígeno de *Giardia* está presente, aparecerá una línea azul de cualquier intensidad en la posición de análisis de *Giardia*. Si el antígeno de *Cryptosporidium* está presente, aparecerá una línea roja de cualquier intensidad (de rosa pálido a rojo) en la posición del análisis de *Cryptosporidium*. Una línea completa en la posición de control indica que el análisis funciona correctamente.

ALMACENAMIENTO
Guardar todos los componentes a una tempreatura de 2 a 8°C. No congelar ni sobrecalentar. Este producto no se debe usar si ha pasado la fecha de caducidad impresa en la etiqueta del envase exterior. Dejar estabilizar los componentes a temperatura ambiente antes de su uso.

PRECAUCIONES
1. Para uso diagnóstico *in vitro*.
2. Se deben leer y seguir atentamente las instrucciones.
3. Los reactivos se proporcionan a la concentración de trabajo necesaria. No diluir.
4. No intercambiar los reactivos entre kits con diferentes números de lote.
5. No utilizar los reactivos después de la fecha de caducidad impresa en el envase.
6. La contaminación microbiana de los reactivos puede reducir la exactitud del análisis.
7. Las muestras pueden contener agentes potencialmente infecciosos y deben manipularse en el Nivel de bioseguridad 2, según las recomendaciones del manual publicado por los CDC/NIH, “Biosafety in Microbiology and Biomedical laboratories” (Bioseguridad en laboratorios de microbiología y biomedicina).[11]
8. No concentrar las muestras antes de realizar el análisis.
9. Las muestras de materia fecal que se han conservado con fijadores PVA no son aptas para su uso.

Precauciones de seguridad
El tampón de dilución de muestras y el conjugado contienen azida sódica al 0,1%, la cual está clasificada según las directivas correspondientes de la Comunidad Económica Europea (CEE) como sustancia peligrosa (Xn). En la hoja de datos de seguridad del fabricante correspondiente al producto se indican las advertencias de riesgo (R) y seguridad (S) pertinentes.

OBTENCIÓN, ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE DE LAS MUESTRAS
Las muestras recogidas para exámenes habituales de H&P pueden ser utilizadas para el análisis Xpect® Giardia/Cryptosporidium. Las muestras de materia fecal deben recogerse en recipientes plásticos limpios con cierre hermético.

- Las muestras frescas sin tratar deben guardarse a 2-8°C y utilizarse en un plazo de 48 horas. Si las muestras frescas no se pueden analizar en un plazo de 48 horas, deben congelarse a -20°C o a una temperatura inferior, en un congelador sin dispositivo antiescarcha, y deben analizarse en un plazo de dos meses. Evite congelar y descongelar varias veces.
- Las muestras de materia fecal tratadas con formalina al 10% o fijadores SAF pueden refrigerarse a una temperatura de 2 a 8°C o guardarse a temperatura ambiente (de 20 a 25°C) y deben utilizarse en un plazo de dos meses a partir de su obtención.
- Las muestras de materia fecal recogidas en medios de transporte Cary Blair modificado con indicador (o equivalentes) deben refrigerarse y utilizarse en un plazo de una semana a partir de su obtención, o bien deben congelarse (como se ha indicado) y utilizarse en un plazo de dos meses a partir de su obtención. Evite congelar y descongelar varias veces.
- Las muestras de materia fecal que se han concentrado o tratado con fijadores PVA no son aptas para su uso en este análisis.

REACTIVOS Y MATERIALES SUMINISTRADOS 20 análisis

1. **Dispositivos de análisis (20):** Membrana rayada con anti-*Giardia* de conejo, anti-*Cryptosporidium* de conejo, e IgG antirratón de cabra
2. **Conjugado (2,5 ml):** Micropartículas de color azul oscuro recubiertas con MAb anti-*Giardia*, micropartículas de color rojo recubiertas con MAb anti-*Cryptosporidium*, y micropartículas de color azul oscuro recubiertas con IgG de ratón
3. **Tampón de dilución de muestras (2,5 ml):** Solución tamponada
4. **Tarjeta de procedimiento (1)**
5. **Pipetas de transferencia desechables (20):** Pipetas con marcas graduadas cada 0,1 ml
6. **Tubos de dilución (20):** Tubos para la preparación de las muestras
7. **Instrucciones de uso (IFU) (1)**

MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS

1. Recipiente para recoger muestras de materia fecal
2. Minutero
3. Agua desmineralizada

Material opcional no suministrado:

1. Controles externos positivos y negativos
2. Medio de transporte de las muestras
3. Gradilla

PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

Antes de utilizarlos, lleve todos los reactivos a temperatura ambiente (20-25°C) y mézclelos suavemente. Los reactivos no utilizados se deben volver a guardar en el refrigerador después de su uso. Todos los reactivos se suministran listos para usar en frascos con cuentagotas. Los reactivos deben dispensarse directamente de los frascos con cuentagotas.

PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

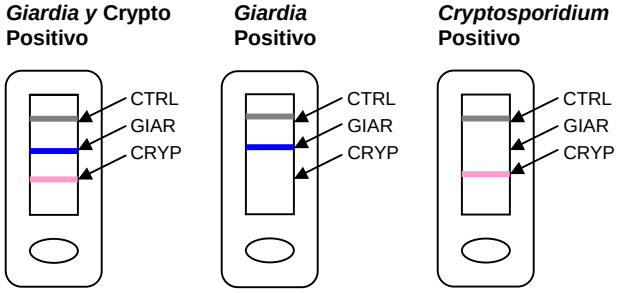
- Las muestras de materia fecal fresca (sin conservantes) deben diluirse a 1:4 (p.ej., 0,1 ml de muestra y 0,3 ml de agua desmineralizada) antes del análisis.
- Las muestras de materia fecal diluidas en formol, SAF o en medio de Cary-Blair modificado con indicador se utilizan sin más diluciones.

PROCEDIMIENTO

1. Retire la cantidad requerida de dispositivos de las bolsas individuales.
2. Etiquete y coloque la cantidad requerida de tubos en una gradilla. Añada 4 gotas completas de tampón de dilución de muestras en cada tubo.
3. Con la pipeta de transferencia que se suministra, coloque 0,1 ml (primera marca desde la punta) de muestra de materia fecal en el tubo. Está permitido obtener principalmente la fracción de líquido de una muestra, evitando los trozos grandes de residuos insolubles. Mezcle la muestra, aspirando con la pipeta de transferencia.
4. Añada 4 gotas completas de conjugado en cada tubo. Mezcle usando una pipeta de transferencia.
5. Con una pipeta de transferencia, administre inmediatamente 0,2 ml (segunda marca desde la punta) de la mezcla de muestra/conjugado diluidos en el pocillo de muestra circular del dispositivo de análisis.
6. Lea los resultados del análisis después de 15 minutos. Puede informarse de un resultado positivo cuando aparezca una línea de control completa. (Los resultados positivos fuertes pueden aparecer antes de los 15 minutos.) Los resultados no son válidos después de 15 minutos.

INTERPRETACIÓN

Consulte la tarjeta de procedimiento incluida.

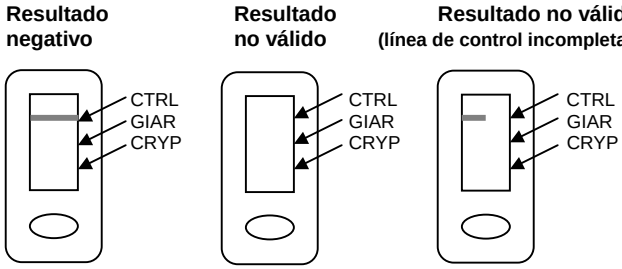


***Giardia:* Resultado positivo:**

La muestra es positiva para *Giardia* si hay una línea completa en la posición CTRL y una línea azul en la posición GIAR. Una línea azul completa y claramente definida, de cualquier intensidad, deberá interpretarse como un resultado positivo.

***Cryptosporidium:* Resultado positivo:**

La muestra es positiva para *Cryptosporidium* si hay una línea completa en la posición CTRL y una línea roja en la posición CRYP. Una línea roja completa y claramente definida, de cualquier intensidad (de rosa pálido a rojo), deberá interpretarse como un resultado positivo.



***Giardia:* Resultado negativo:**

La muestra es negativa para *Giardia* si hay una línea completa en la posición CTRL y no hay ninguna línea visible en la posición GIAR.

***Cryptosporidium:* Resultado negativo:**

La muestra es negativa para *Cryptosporidium* si hay una línea completa en la posición CTRL y no hay ninguna línea visible en la posición CRYP.

Resultado no válido

Se produce un resultado no válido cuando:

a. La línea CRYP es incompleta a los 15 minutos.
b. La línea GIAR es incompleta a los 15 minutos.
c. La línea CTRL no aparece o es incompleta a los 15 minutos.

En caso de producirse la condición (a), (b) o (c), la muestra deberá volver a analizarse, de la siguiente manera:

Reanálisis de la preparación de la muestra

Las muestras altamente viscosas y aquéllas que contienen muchos residuos o mucosa pueden presentar un flujo restringido por toda la membrana del dispositivo y pueden provocar resultados no válidos. Estas muestras deberán diluirse más y volver a analizarse mediante el siguiente procedimiento:

1. Combinar en un tubo de muestra 0,1 ml (4 gotas) de tampón de dilución de la muestra, y 0,1 ml de (a) la muestra principal en conservante o (b) la muestra sin conservante, diluida a 1:4 con agua desmineralizada. Mezclar la preparación, aspirando con la pipeta de transferencia.
2. Utilizar ésta como muestra preparada y repetir los puntos 1 a 6 del procedimiento.

CONTROL DE CALIDAD
La aparición de una línea de control en la posición CTRL verifica que se ha añadido conjugado intacto al dispositivo, que el anticuerpo de la línea de control es funcionalmente activo, y que se ha producido el flujo capilar adecuado.

Se recomienda analizar las muestras positivas y negativas en *Giardia* y *Cryptosporidium*, o el kit de control Xpect® Giardia/Cryptosporidium (REF 2450530) según los procedimientos del número de lote de cada kit nuevo. Cada laboratorio debe cumplir con los requisitos locales y de su estado.

LIMITACIONES
1. La validez de los resultados obtenidos con el análisis Xpect® Giardia/Cryptosporidium depende de que la reacción de control tenga el resultado esperado. Consulte la sección "Control de calidad".
2. Un resultado negativo no excluye la posibilidad de la presencia de *Giardia* o *Cryptosporidium* y puede tener lugar cuando el nivel de antígenos en la muestra es inferior al nivel de detección del análisis. No se ha establecido una correlación entre la cantidad de antígeno en una muestra y la presentación clínica.
3. No se ha establecido totalmente la presencia de un efecto de gancho en este análisis. Las muestras evaluadas con concentraciones altas de antígeno diana y un gran número de microorganismos no produjeron un resultado falso negativo debido al efecto de gancho.
4. Al igual que en todos los análisis de diagnóstico *in vitro*, los resultados deben ser interpretados por el médico junto con los hallazgos clínicos u otros resultados de laboratorio.
5. La recogida y el procesamiento correctos de las muestras son fundamentales para obtener la máxima precisión en el análisis. Para obtener unos resultados óptimos, el análisis debe realizarse lo antes posible después de obtener las muestras. Vea la sección "Obtención, almacenamiento y transporte de las muestras".
6. No se ha establecido la sensibilidad analítica de este análisis utilizando muestras de materia fecal formadas.
7. Las concentraciones del 20% (v/v) de Imodium® A-D pueden mostrar una reacción negativa ante la presencia de bajos niveles de antígeno de *Cryptosporidium*.
8. No se ha establecido la reactividad cruzada con otras especies de *Cryptosporidium* aparte de *C. parvum*.

VALORES ESPERADOS
La giardiasis se contrae por transmisión fecal-oral o por ingestión de agua o alimentos contaminados. En todo el mundo, *G. lamblia* es el parásito más comúnmente identificado en muestras de materia fecal, con un índice de prevalencia entre el 2 y el 5%. La incidencia de la giardiasis es más elevada en niños que en adultos. En los Estados Unidos, el índice de portadores asintomáticos de *G. lamblia* se calcula entre el 3 y el 7%, con índices de hasta el 20% en las zonas del sur y en los niños menores de 36 meses que asisten a las guarderías.

C. parvum se transmite por oocistos resistentes al medio ambiente que son completamente esporulados e infecciosos en el momento de la defecación. El número de oocistos contenidos en la materia fecal puede fluctuar y las muestras formadas generalmente contienen menos oocistos que las muestras de diarrea.[12] Los índices de prevalencia varían entre el 1 y el 3% en Norteamérica y Europa, y entre el 7 y el 9% en países menos desarrollados. Los índices tienden a ser más elevados en los niños menores de 2 años y en las personas con sistemas inmunológicos más debilitados.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO
Sensibilidad y especificidad comparada con la microscopía
Se evaluó el comportamiento de Xpect® Giardia/Cryptosporidium en seis laboratorios clínicos distintos. La sensibilidad y la especificidad totalesdel análisis se compararon con la microscopía en una sola muestra. No se ha establecido el comportamiento en relación con el estado clínico de los pacientes. La sensibilidad y la especificidad totales de *Giardia* y *Cryptosporidium* se indican a continuación.

Giardia		**Microscopía**	
		+	**-**
Xpect®	**+**	92	7
	-	4	474
	Total	96	481

Sensibilidad: 95,8% (92/96); I.C. 95% = del 89,8 al 98,4%
Especificidad: 98,5% (474/481); I.C. 95% = del 97,0 al 99,3%

Cryptosporidium		**Microscopía**	
		+	**-**
Xpect®	**+**	108	7
	-	4	458
	Total	112	465

Sensibilidad: 96,4% (108/112); I.C. 95% = del 91,2 al 98,6%
Especificidad: 98,5% (458/465); I.C. 95% = del 96,9 al 99,3%

Nota: I.C. = intervalo de confianza

Después del análisis inicial, 17 muestras produjeron un resultado no válido (sin línea de control). Estas muestras se volvieron a analizar (vea "Procedimiento de reanálisis"). Quince de estas muestras produjeron resultados válidos que se muestran en el resumen de datos arriba indicado. Dos muestras reanalizadas produjeron un resultado no válido (sin línea de control) y fueron excluidas del estudio.

Porcentaje de coincidencia: Xpect® y dispositivo de referencia con la microscopía
El análisis Xpect® Giardia/Cryptosporidium y un análisis de flujo lateral disponible comercialmente (el "dispositivo de referencia") se compararon con la microscopía. El porcentaje de coincidencia de cada análisis con la microscopía fue el siguiente:

Giardia		**Microscopía**		
		+	**–**	
Xpect®	**+**	19	5	
	–	2	120	**Coincidencia**
Total		21	125	**95,2%** (139/146)
Dispositivo de referencia	**+**	19	7	
	–	2	118	**Coincidencia**
Total		21	125	**93,8%** (137/146)

Cryptosporidium		**Microscopía**		
		+	**–**	
Xpect®	**+**	28	5	
	–	2	111	**Coincidencia**
Total		30	116	**95,2%** (139/146)
Dispositivo de referencia	**+**	29	21	
	–	1	95	**Coincidencia**
Total		30	116	**84,9%** (124/146)

Reactividad cruzada
No se observó reactividad cruzada al utilizar muestras con los siguientes microorganismos: *Ascaris lumbricoides, Blastocystis hominis, Campylobacter coli, Campylobacter jejuni, Candida albicans, Chilomastix mesnili, Cyclospora cayetanensis, Dientamoeba fragilis, Endolimax nana, Entamoeba coli, Entamoeba hartmanni, Entamoeba histolytica, Enterobius vermicularis, Escherichia coli,* uncinaria*, Hymenolepis nana, Iodamoeba bütschlii, Isospora* sp.*,* Microsporidia*,* Rotavirus*, Salmonella choleraesuis* subesp. *choleraesuis* serotipo Typhimurium*, Shigella dysenteriae, Shigella flexneri, Shigella sonnei, Strongyloides stercoralis, Taenia* sp*.* y *Trichuris trichiura.* No se observó reactividad cruzada de *Giardia amblia* en la zona de *Cryptosporidium*, ni de *Cryptosporidium parvum* en la zona de *Giardia*. No se ha establecido la reactividad cruzada con el astrovirus ni con ningún calcivirus.

Sustancias que interfieren
Antes del análisis, a las muestras positivas y negativas se les añadieron cantidades conocidas (20% v/v) de sangre, mucina, grasa fecal, o con los siguientes productos habituales para detener la diarrea: Pepto-Bismol®, Imodium® A-D y Kaopectate® (ingredientes activos: subsalicilato de bismuto, HCl de loperamida y atapugita, respectivamente). Los análisis indicaron que ninguna de las sustancias analizadas interferían con el resultado esperado, excepto Imodium® A-D. Imodium® A-D al 20% (v/v) en la materia fecal interfería con la detección de bajos niveles de antígeno de *Cryptosporidium*.

Reproducibilidad
Se realizaron análisis de reproducibilidad en siete centros, incluido un centro propio, durante tres días diferentes y con diez muestras ciegas de actividad variable. El 100% de las 630 muestras analizadas para *Giardia* y de las 630 para *Cryptosporidium* produjo el resultado esperado.

BIBLIOGRAFÍA

1. Marshall, M.M., D. Naumovitz, Y. Ortega y C.R. Sterling. 1997. Clin. Microbiol. Rev. 10:67-85.
2. Adam, R. 2001. Clin. Microbiol. Rev. 14:447-475.
3. Gardner, T.B. y D.R. Hill. 2001. Clin. Microbiol. Rev. 14:114-128.
4. Upcroft, P. y J.A. Upcroft. 2001. Clin. Microbiol. Rev. 14:150-164.
5. Current, W.L. y L.S. Garcia. 1991. Clin. Microbiol. Rev. 4:325-358.
6. Clark, D.P. 1999. Clin. Microbiol. Rev. 12:554-563.
7. Garcia, L.S. y R.Y. Shimizu. 1997. J. Clin. Microbiol. 35:1526-1529.
8. Aldeen, W.E., K. Carroll, A. Robison, M. Morrison y D. Hale. 1998. J. Clin. Microbiol. 36:1338-1340.
9. Chan, R., J. Chen, M.K. York, N. Setijono, R.L. Kaplan, F. Graham y H.B. Tanowitz. 2000. J. Clin. Microbiol. 38:393-394.
10. Garcia, L.S., R.Y. Shimizu y C.N. Bernard. 2000. J. Clin. Microbiol. 38:3337-3340.
11. Richmond, J.Y. y R.W. McKinney. 1999. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. 4th ed. U.S. Dept. H.H.S., CDC and National Institutes of Health, Washington, D.C.
12. Garcia, L.S. 2001. Diagnostic Medical Parasitology. 4th ed. ASM Press, Washington, D.C.

PRESENTACIÓN
REF 2450520, Xpect® Giardia/Cryptosporidium.....20 análisis/kit

Símbolos

REF	Número de catálogo
IVD	Producto sanitario para diagnóstico in vitro
LAB	Para uso en laboratorio
	Consultar las instrucciones de uso (IFU)
	Límite de temperatura (Temp. de almacenamiento)
LOT	Código de lote (Número de lote)
	Fecha de caducidad
EC REP	Representante autorizado en Europa

CE

Xpect® es una marca registrada de Remel Inc.
Pepto-Bismol®, Imodium® y Kaopectate® son marcas registradas de Procter & Gamble, McNeil Consumer & Specialty Pharmaceuticals, y Pharmacia & Upjohn Company, respectivamente.

IFU 2450520, Revisado el 01.01.2006 Impreso en los EE.UU.

12076 Santa Fe Drive, Lenexa, KS 66215, Estados Unidos
Información general: (800) 255-6730 Servicio técnico: (800) 447-3641 Entrada de pedidos: (800) 447-3635
Teléfono local / internacional: (913) 888-0939 Fax internacional: (913) 895-4128
Sitio web: www.remel.com Correo electrónico: remel@remel.com